

314713

**Deoxyspergualin, ein neues Immunsuppressivum
bei xenogener Organtransplantation**

Von
Thomas Singer

München 1989





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554827_0080

Aus dem Institut für
Chirurgische Forschung
Universität München, Klinikum Großhadern
Direktor: Prof.Dr.Dr.h.c. W. Brendel
Angefertigt unter Leitung von
Prof.Dr.med.vet.Dr.med. C. Hammer

Vorgelegt über das
Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und
Ernährungsphysiologie der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München
Prof.Dr.med.vet. M. Merckenschlager

Deoxyspergualin, ein neues Immunsuppressivum
bei xenogener Organtransplantation

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians Universität München

Von
Thomas Singer
aus Schwandorf
München 1989

**Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München**

Dekan: Univ.- Prof.Dr.M.Rüsse
Referent: Univ.- Prof.Dr.M.Merkenschlager
Korreferent: Univ.- Prof.Dr.Dr.habil.U.Matis

Tag der Promotion: 28.Juli 1989

Inhaltsverzeichnis

A. Einleitung	1
B. Literaturübersicht	3
C. Eigene Untersuchungen	12
1. Problemstellung	12
2. Material und Methoden	14
2.1. Versuchstiere	14
2.2. Versuchsablauf	14
2.3. Präoperative Behandlung	15
2.4. Anästhesie und operative Vorbereitung	16
2.5. Transplantation	17
2.5.1. Präparation der Spender nieren	17
2.5.2. Nierenimplantation	17
2.5.3. Implantation der Ureteren	18
2.6. Postoperative Behandlung	19
2.7. Klinische Parameter	19
2.7.1. Hämatologie	19
2.7.2. Harnstoff und Kreatinin	20
2.8. Immunologisches Monitoring	20
2.8.1. Feinnadelbiopsie und Aspirationszytologie	20
2.8.2. Morphologische Differen- zierung	22
2.8.3. Corrected Increment	23
2.8.4. Mononukleäres Konzentrat und Granulozytenseparation	25
2.9. Pathologie	26
2.10. Statistik	26
D.	27
3. Ergebnisse	27
3.1. Überlebenszeit der Empfänger	27
3.2. Pathologie und Pathohistologie	31
3.3. Postoperative Komplikationen	33
3.4. Verlauf der Kreatininserum- spiegel	35
3.5. Zelluläre Blutbestandteile	36
3.5.1. Erythrozyten	36
3.5.2. Leukozyten	38
3.6. Feinnadelaspirationszytologie	40
3.7. Corrected Increment	42
E.	44
4.1. Diskussion	44
4.1. Geschichtlicher Abriß der	

	allogenen und xenogenen Organtransplantation	44
4.2.	Versuchsmodell Fuchs-Hund	53
4.3.	Überlebenszeiten im Vergleich	63
4.4.	Serumanalysen nach 15 Deoxy- spergualin-Therapie	72
4.5.	Hämatologische Befunde	75
4.6.	Zellinfiltrationen im Trans- plantat	77
4.7.	Der Einfluß von 15-Deoxysper- gualin auf die Abstoßung	78
4.8.	Toxizität von 15-Deoxy- spergualin	81
4.9.	Nebenwirkungen bei der 15-DS Therapie	82
F.		
	5. Zusammenfassung	83
	Summary	85
G.		
	Literaturnachweis	87

Verwendete Abkürzungen

ADCC	anitkörperabhängige zellvermittelte Zyto- toxizität
AMS	Antimakrophagenserum
ALS	Antilymphozytenserum
aLy	aktivierter Lymphozyt
AR	Abstoßungsreaktion
Baso	basophiler Granulozyt
C.I.	Corrected Increment
CSA	Cyclosporin A
d	Tag
DTH	Überempfindlichkeit vom verzögerten Typ
15-DS	Deoxyspergualin
Eos	eosinophiler Granulozyt
FNAC	Feinnadel-Aspirations-Zytologie
h	Stunde
HD	Hund
HXAR	hyperakute xenogene Abstoßungsreaktion
I.E.	Internationale Einheit
IL	Interleukin
i.m.	intramuskulär
i.v.	intravenös
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
Lb	Lymphoblast
LGL	Large Granular Lymphocyte
Ly	Lymphozyt
M	Molar
MAF	makrophagenaktivierender Faktor
MHC	mayor histocompatibility complex
min	Minute
mg	Milligramm
ml	Millimeter
MNK	Mononukleäres Konzentrat
n	Anzahl
op	Operation
p	Signifikanzwert
pB	peripheres Blut
PNAK	präformierte natürliche Antikörper
SD	Standardabweichung
SVT	durchschnittliche Überlebenszeit
Upm	Umdrehungen pro Minute
ZIM	zytoimmunologisches Monitoring

Meinen Eltern

A. Einleitung

Die letzte Statistik von "Organ Transplant Registry" macht deutlich, welche großen Erfolge auf dem Gebiet der Organübertragung erreicht werden konnten.

Durch die Fortschritte der Allgemeinmedizin wie auch der Transplantationsmedizin und der damit verbundenen Verlängerung der Lebenserwartung, wird es immer mehr Patienten geben, bei denen durch Ersatz eines Organs nahezu eine restitutio ad integrum gewährleistet wäre.

Diese Aufgabe der Transplantationschirurgie wird durch einen Mangel an Spenderorganen begrenzt. Durch die Erhöhung der Sicherheit im Straßenverkehr und eine verbesserte Unfall- und Intensivmedizin wird das Angebot passender Spenderorgane immer geringer werden, im krassen Gegensatz dazu stehen die immer größer werdenden Kapazitäten in den Transplantationszentren. Auch hat die Bereitschaft zur Organspende in der Bevölkerung nicht in dem gewünschten Maß zugenommen.

Trotz aller großen Fortschritte sind zwei Problem-bereiche geblieben; zum einen die Bereitstellung der Organe, zum anderen die geeignete immunsuppressive Therapie.

Zur Lösung des ersteren Problems bieten sich zwei Wege an. Einmal die Verwendung von künstlichen Organen - eine Möglichkeit, der nur sehr kurze und fragwürdige Erfolge beschieden waren.

Oder die Verwendung artfremder Organe, d.h. Organe von solchen Spendern zur Transplantation zu verwenden, die einer anderen zoologischen Spezies

angehören als der Spender.

Diese Wunschvorstellung, menschliche Organe im Notfall durch funktionsadäquate tierische Organe zu ersetzen, läßt sich bis in mystische Erzählungen zurückverfolgen. Man kann sogar sagen, daß die Geschichte der Organtransplantation mit der Übertragung tierischer Gewebe begann.

Die Vorteile der klinischen Xenotransplantation liegen vor allem in der Umgehung von ethischen, juristischen und besonders vor allem quantitativen Schwierigkeiten.

Eine jederzeit zugängliche Quelle xenogener Organe böte die eleganteste Lösung der genannten Probleme.

B. Literaturübersicht

Struktur und Isolierung

15-Deoxyspergualin ist ein Guanidinderivat und entsteht als Stoffwechselprodukt von *Bacillus laterosporus*. Es wurde 1981 von einer Gruppe um Prof. Umezawa in Japan isoliert. (TAKEUCHI et al., 1981; UMEZAWA et al., 1981; KONDO et al., 1981)

Diese Polyaminverbindung, (15S)-1-amino-19-guanidin-11,5 dihydroxy-4,9,12 triazanodecan-10,13 dion, wurde als Spergualin bezeichnet, weil es am Ende eine Spermidin und Guanidin Gruppe enthält. (Abb. 1)

Obwohl diese Verbindung auch wirksam gegen *Staphylococcus aureus* und *Bacillus subtilis* ist, richtete sich das meiste Interesse auf die antitumoröse Wirkung bei der Leukämie der Mäuse.

Veränderungen des Spergualins, mit einer Dehydroxylierung an Position 15, ergaben das 15-Deoxyspergualin (15-DS)

Diese Verbindung besitzt ein asymmetrisches Kohlenstoffatom an Position 11, so daß zwei isomere Verbindungen möglich sind.

Das Molekulargewicht des Hydrochloridsalzes beträgt 469.6. Die Verbindung wurde erstmal 1982 synthetisiert. (IWASAWA et al., 1982; UMEDA et al., 1985; BERGEON und McMANIS 1987)

Die Synthese des optischen Isomeres wurde erstmals von Umeda et al. 1987 beschrieben.

Antitumoröse Wirkung

Die Grundsubstanz Spergualin besitzt eine gute antitumoröse Wirkung bei der Leukämie der Maus. (NISIKAWA et al., 1986)

Bei 7 Leukämiearten erprobt, zeigten alle eine signifikante Verlängerung der Überlebenszeit nach Verabreichung des Spergualins.

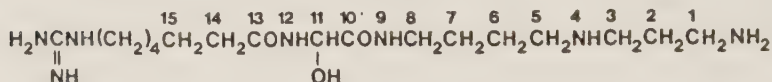


Abb. 1: Chemische Struktur von 15-DS: (+)-15-Deoxyspergualin

Bei soliden Tumoren war die Substanz dagegen unwirksam, oder deutlich geringer wirksam.

Von den verschiedenen Derivaten des Spergualins zeigte das 15-Deoxyspergualin die beste Wirksamkeit. Sie war etwa 8 mal so stark wie bei der Grundsubstanz. (IWASAWA et al., 1982; UMEDA et al., 1985)

15-Deoxyspergualin war ebenso wirksam bei der iatrogen verursachten Leukämie der Ratten; induziert durch eine Behandlung mit N-butyl-Nitroharnstoff. (ITO et al., 1986)

Verschiedene Gruppen erforschten die optimale Dosis von 15-Deoxyspergualin bei der Leukämiebehandlung. Dabei erbrachten Vergleiche zu einmaligen Bolusinjektionen, daß mehrmalige Injektionen von geringeren Dosen effizienter waren und eine geringere Toxizität besaßen. (FLOWMAN et al., 1987)

Das würde bedeuten, daß der Plasmaspitzenwert verantwortlich für die toxische Wirkung ist und daß

die Substanz nicht im Serum kummuliert wird.
(FLOWMAN et al., 1987)

15-Deoxyspergualin und das Immunsystem

Viele Interaktionen des Immunsystems mit 15-DS sind noch nicht erforscht oder verstanden.

Die wichtigste Erkenntnis aller Autoren war, daß 15-DS eine starke Unterdrückung des Makrophagen/Monozytensystems bewirkt.

In einem Experiment wurden Mäuse intraperitoneal mit 2.5-20mg 15-DS behandelt. Drei Tage später wurden Makrophagen aus der Peritonealhöhle entnommen und die Produktion von O_2^{--} -Radikalen mit der Chemilumineszenzreaktion gemessen (nach SCHORLEMMER et al., 1984)

Dabei zeigte sich eine dosisabhängige Unterdrückung der Chemilumineszenz. Dies konnte für unstimulierte und für Zymosan stimulierte Makrophagen gezeigt werden.

In einem ähnlichen Experiment konnte die Sekretion von hydrolytischen Enzymen (N-Ac-Glucosamidase) von Makrophagen dosisabhängig vermindert werden. (DICKNEITE et al., 1985) Die beobachtete Unterdrückung der Makrophagenaktivität war kein zytotoxischer Effekt, sondern eine funktionelle Hemmung. Dies wird bewiesen, da es zu keinem Anstieg der LDH-Aktivität in kultivierten Makrophagen kam, die von 15-DS behandelten Tieren stammten (DICKNEITE et al. 1987a). 15-DS verlängert effektiv die Überlebenszeit von transplantierten Organen. Dies bedeutet, daß die Immunantwort auf Alloantigene unterdrückt wird.

Makrophagen starten die Immunantwort durch die Präsentation des Antigens, (HALL und DORSCH, 1984) und sezernieren Interleukin 1 zur Aktivierung der T-Helfer Lymphozyten.

Es stellte sich heraus, daß die IL 1 Produktion von Makrophagen dosisabhängig von 15-DS gehemmt wird. (DICKNEITE et al., 1987d)

Weiterhin wird die Expression von MHC ClassII(1a+) Antigenen auf Makrophagen beeinflusst.

In vitro behandelte Rattenmilzmakrophagen zeigten eine dosisabhängige Verminderung der MHC ClassII Antigene.

Bei den Lymphozyten konnte gezeigt werden, daß die durch Mitogen ausgelöste Proliferation nicht durch 15-DS beeinflusst werden konnte.

Abweichend von den anderen Autoren berichtet NEMOTO et al. (1987e) über eine verminderte Lymphoblastengnese, bei mit 15-DS behandelten Ratten.

Organtransplantation

Die oben beschriebenen Eigenschaften und Interaktionen des 15-DS mit dem Immunsystem weisen auf einen neuen Mechanismus der Immunsuppression hin, der bis dato bei der Therapie noch nicht beschritten wurde. Cyclosporin A, daß vor einigen Jahren als Basismedikament zur Immunsuppression Eingang in die Klinik gefunden hatte (LAUPACIS et al., 1982), wirkt in erster Linie auf die Lymphozyten, indem es die T-Helfer Lymphozyten unempfindlich für Interleukin 2 macht. (BRITTON und PALACIAS, 1982, MATSURA et al., 1985)

Weiterhin beeinflusst Cyclosporin A die Makrophagenfunktionen nicht. (PALACIAS et al., 1982)

Pankreasinselzelltransplantation

Durch die Beobachtung, daß die Suppression des Makrophagen/Monozytensystems zu einer Verlängerung der Überlebenszeit von transplantierten Inselzellen führt, wurde 15-DS hierbei erprobt.

Dazu wurden Ratten mit einem durch Streptozotzin verursachten Diabetes mellitus verwendet. Dabei führte die Behandlung zu einer Verzehnfachung der Überlebenszeit. (WALTER et al., 1986; WALTER et al., 1987c)

Ein zeitweiliger Anstieg der Blutglukose, der bei Cyclosporin A behandelten Tieren auftrat (als Zeichen eines zytotoxischen Effektes des Cy A auf die Inselzellen), trat bei der 15-DS Behandlung nicht auf. (HAHN et al., 1986)

Pankreastransplantation

Es wurde das gleiche Tiermodell wie bei der Inselzelltransplantation beschrieben, verwendet. Dabei erhöhte sich die Überlebenszeit, in der mit 15-DS behandelten Gruppe um 80 %. (THIES et al., 1987)

Weiterhin wurden in diesem Modell vergleichbare Wirkungen von 15-DS und Cy A festgestellt. (SCHUBERT et al., 1987) Hier konnten keine synergistischen Effekte der beiden Immunsuppressiva festgestellt werden.

Herztransplantation

Die ersten Erfahrungen mit 15-DS bei der experimentellen Herztransplantation, im Rattenmodell, stammen von WALTER et al. (1988b).

In diesem Versuch konnte die durchschnittliche Überlebenszeit von 8,5 Tagen auf 32,5 Tage, durch die Behandlung mit 15-DS, verlängert werden.

Ähnliche Ergebnisse mit einem anderem Behandlungsschema und Dosis, wurden auch von SUZUKI et al. (1987) berichtet.

Nierentransplantation

Hier wurde im Rattenmodell nach einer kurzzeitigen Gabe von 15-DS keine Abstoßungsreaktion beobachtet und man vermutete eine immunologische Toleranz. (WALTER et al., 1986c) 1987 aber konnte dieses sensationelle Forschungsergebnis von der selben Gruppe widerlegt werden. Es stellte sich heraus, daß die immunologische Reaktion erst sehr spät und nach weiterem Antigenkontakt einsetzte.

Lebertransplantation

Hier wurden von THIES et al. (1987) vergleichbare Ergebnisse wie bei der Nierentransplantation erreicht.

Hauttransplantation

Wie schon für die Grundsubstanz Spergualin gezeigt werden konnte (UMEZAWA et al., 1985), verbesserte 15-DS die Überlebenszeit transplantierte Hautstücke. (DICKNEITE et al., 1985)

Als Novität stellte sich in diesem Modell heraus, daß 15-DS auch wirksam war, wenn die Therapie erst zu Beginn der Abstoßungskrise begonnen wurde. (DICKNEITE et al., 1987d)

Im Affenmodell (*Macaca fascicularis*) erwies sich 15-DS genauso wirksam wie humanes Antilymphozytenserum (AHLG, Pressimmun[®], Behringwerke).

Autoimmunkrankheiten

Die Substanz wurde auch bei verschiedenen autoimmunologisch verursachten Krankheiten erprobt.

Experimentelle allergische Encephalomyelitis (EAE) ist ein Tiermodell, daß man zur Untersuchung der humanen Multiplen Sklerose heranziehen kann.

Hier konnte die Gabe von 15-DS die Überlebenszeit der Tiere signifikant erhöhen. (NEMOTO et al., 1987a; DICKNEITE et al., 1987b)

Eine andere neuropathologische Autoimmunkrankheit, die experimentell ausgelöste Myasthenia gravis, wird durch Immunisierung mit gereinigtem Acetylcholinrezeptor verursacht.

Hier konnte unter Therapie mit 15-DS eine deutliche Reduzierung der Antikörper gegen AChR nachgewiesen werden. (ISHIGAKI et al., 1987)

Pharmakokinetik

Nach intravenöser Injektion wird 15-DS sehr schnell aus dem Plasma eliminiert.

Nach einer Bolusinjektion von 6 mg pro Kilogramm Körpergewicht bei Mäusen, beträgt die α und β Halbwertszeit 1,9 und 11,6 min. (PLOWMAN et al., 1987).

Im Hundeplasma entspricht die Eliminierung einer Funktion 1. Ordnung und ist unabhängig von der verabreichten Dosis.

Die Halbwertszeit beträgt hier 51 min. (WELTMANN et al., 1986). Dabei scheint die Toxizität von 15-DS in Beziehung mit dem Plasmaspitzenwert zu stehen. (WELTMAN et al., 1986)

C. Eigene Untersuchungen

1. Problemstellung

In dieser Arbeit sollte erstmals eine neue Generation von Immunsuppressiva - oder besser Immunmodulatoren - untersucht werden.

Da dies der erste Versuch dieser Art war, sollten viele grundlegende Fragen geklärt werden.

Läßt sich mit 15-DS im xenogenen Transplantationsmodell beim Großtier eine Verlängerung der Überlebenszeit der Tiere erreichen?

Wie beeinflußt diese Substanz die immunologische Antwort der Transplantatempfänger?

Welche Aussagen lassen sich bezüglich der Toxizität machen?

Welche Nebenwirkungen auf die anderen Organsysteme sind zu beobachten?

Wie verhält sich die Substanz im Vergleich zu anderen Immunsuppressiva bezüglich der immunsuppressiven Potenz, der Toxizität und der Nebenwirkungen?

Es wurde dazu das mit herkömmlichen Präparaten bereits gut untersuchte Modell Fuchs-Hund gewählt. (PONGRATZ et al., 1975; ROSCHER et al., 1978; SCHEEL et al., 1975)

Das Modell bietet den weiteren Vorteil, daß die genetische Disparität weitgehend mit dem System Schimpanse-Mensch übereinstimmt und somit Rückschlüsse auf die klinische Situation erlaubt. (HAMMER et al., 1973)

Der Hund bzw. Fuchs ist aufgrund seiner dem Menschen sehr ähnlichen Nierenfunktion ein geeigne-

tes Versuchstier. (HEIDENREICH et al., 1980)

Desweiteren sollten durch die von der finnischen Gruppe um PEKKA HÄYRY entwickelte Methode der Feinnadelaspirationszytologie zelluläre Bewegungen im Transplantat erfaßt werden. (HÄYRY et al., 1980; 1981; HÄYRY und WILLEBRAND, 1981)

Mit dieser risikoarmen Methode können zytologische Veränderungen erfaßt werden, die eine zelluläre Abstoßungsreaktion charakterisieren und mit der histologischen Diagnose sehr gut korrelieren. (KOLLER et al., 1984)

Besondere Aufmerksamkeit wurde der pathologischen Untersuchung der Niere gewidmet, da von anderen Immunsuppressiva ein starker nephrotoxischer Effekt bekannt ist.

Bei der Beurteilung der immunsuppressiven Potenz bietet dieses Transplantationsmodell den weiteren großen Vorteil, daß hier sowohl die zellulären als auch die humoralen Mechanismen der Transplantatabstoßung nebeneinander untersucht werden konnten. (BÖHM et al., 1986)

Weiterhin sollte die Frage nach der optimalen Dosierung geklärt werden.

Die Dosierungen aus den Nagermodellen konnten wegen starker Unverträglichkeiten nicht übernommen werden. Die aus einem Vorversuch von uns gewonnene Dosierung sollte nun auch bei einer größeren Tierzahl untersucht werden.

2. Material und Methoden

2.1. Versuchstiere

Als Empfänger dienten 11 Mischlingshunde mit einem Körpergewicht zwischen 14-18 kg. Die Auswahl der Hunde bezüglich ihrer Rasseanteile erfolgte rein zufällig; alle Tiere stammten aus ungarischen Hundezuchten.

Die Hunde waren gegen Leptospirose, Staupe und Hundehepatitis geimpft und entwurmt worden. Sie befanden sich alle in einem guten Ernährungs- und Pflegezustand bei ungestörtem Allgemeinbefinden.

Als Spender standen 11 Silberfuchse (*Vulpes vulva*) mit einem Körpergewicht von 5-7 kg zur Verfügung. Die Tiere stammten aus einer fränkischen Pelztierfarm und wurden vor Versuchsbeginn 14 Tage in Quarantäne gehalten.

2.2. Versuchsablauf

Den jeweils beidseitig nephrektomierten Empfänger-tieren wurden beide Fuchsnieren in "en-bloc" Technik übertragen. Das heißt, die Fuchsnieren wurden paarweise mit zugehörigem Aorten- und Vena cava Segment entnommen und mit den Iliacalgefäßen des Empfängers anastomosiert.

15-DS wurde zweimal täglich als Kurzinfusion appliziert. Die Infusion wurde kurz vor der Applikation hergestellt, da die Substanz kristallin bei -20°C gekühlt, geliefert wurde.

Die Gesamttagesdosis betrug am Tag 0 (am Opera-

tionstag) 2.5 mg pro kg. Körpergewicht als "loading dose". An jedem folgenden Tag wurde 1,0 mg 15-DS pro kg Körpergewicht appliziert.

Nach der Transplantation wurden im 2-tägigen Rhythmus Feinnadelaspirationen an beiden Nieren durchgeführt. Damit wurde das Ausmaß der zellulären Infiltration sowie der Zustand der Parenchymzellen ermittelt.

Weiterhin wurde bei allen Tieren täglich ein mononukleäres Konzentrat angefertigt, zur Beurteilung aktivierter Zellformen im peripheren Blut.

Die täglich entnommenen Blutproben dienten der Laboratoriumsdiagnostik, wobei besonders die Serumkreatinin und Harnstoffspiegel einen Überblick über die Nierenfunktion gaben. Nach dem Tod der Tiere wurde in jedem Fall eine Sektion durchgeführt. Dabei wurden sämtliche Organsysteme makroskopisch inspiziert und Proben für die histologische Untersuchung entnommen.

2.3. Präoperative Behandlung

Bei allen Empfängertieren wurde vor der Operation eine gründliche klinische Untersuchung durchgeführt.

Die dabei gewonnenen Blutproben und Blutausstriche dienten gleichzeitig als hämatologische Referenzwerte für die folgenden Präparate. Dabei wurde Leukozyten- und Erythrozytenanzahl, Hämoglobin- und Hämatokritwert, Serumkreatinin, Serumharnstoff und Bilirubin gemessen.

Als antibiotische Prophylaxe erhielten alle Hunde

kurz vor der Operation ein Breitbandpenicillin-Kombinationspräparat (Benzathin-Benzylpenicillin, Dihydrostreptomycinsulfat, Tardomycel[®], Bayer Leverkusen) in einer Dosierung von 0,1 ml/kg Körpergewicht intragluteal verabreicht. Noch während der Operation erhielten die Tiere die erste "loading dose" 15-DS infundiert.

2.4. Anästhesie und operative Vorbereitung

Die Empfängerhunde erhielten eine halbe Stunde vor Operationsbeginn 0,5 mg Atropinsulfat (Atropin-Sulfat[®], Drobenä GmbH, Berlin) und 0,03 ml/kg Körpergewicht eines Phenothiazinpräparates (Combelen[®], Bayer AG, Leverkusen), intramuskulär prämediziert. Kurz vor der Narkoseeinleitung wurde 0,4 ml/kg KG Levamethadon (Polamivet[®], Hoechst AG, Frankfurt, Main) i.m. als Analgetikum verabreicht. Nach Intubierung und Narkoseeinleitung mit einem Lachgas-Halothangemisch wurde die Narkose mit einem Sauerstoff-Lachgasverhältnis von 1:2 aufrechterhalten. Als Anästhetikum wurde Halothan[®] (Halothan, Hoechst AG, Frankfurt/Main) in einer Konzentration von 0,3-0,6 Vol. % zugeführt.

Um ein zu starkes Abkühlen der Tiere zu vermeiden, wurde der Operationstisch bei jeder Transplantation beheizt.

Intraoperativ wurde den Tieren 800-1200 ml Ringerlösung (DAB 7 Braun, Melsungen), die erste Gabe des 15-DS und nach Anastomosierung der Spendernieren 20 mg Furosemid-Na (Lasix[®], Hoechst AG, Frankfurt/Main) infundiert.

2.5. Transplantation

2.5.1. Präparation der Spendernieren

Nach Rasur, Hautentfettung und Oberflächendesinfektion wurde über einen medianen Schnitt vom Xiphoid bis zum Schambein, das Abdomen eröffnet. Unter Schonung der Nierenhili wurden beide Nieren mit zugehörigen Gefäßen freipräpariert.

Die Nebennierengefäße wurden ligiert und nach Abbindung aller Seitenäste ober- und unterhalb der Ateriae und Venae renales die Aorta abdominalis und die Vena cava caudalis mobilisiert. Die proximalen zwei Drittel der Ureteren wurden jeweils dargestellt, mobilisiert und abgesetzt. Aorta abdominalis und Vena cava caudalis wurden proximal und distal der Nierengefäße abgeklemmt und anschließend durchtrennt. Dieses "en-bloc Präparat" wurde über die proximale Aorta, dessen distales Ende abgeklemmt war, mit Hilfe eines Adapters blutleer gespült.

Das auf 4°C gekühlte Perfusat bestand aus 300 ml Ringerlösung mit einem Heparinzusatz von 1000 I.E./100 ml (Heparin novo[®], Novo-Industrie GmbH, Mainz) Lösung. Danach wurden die Spendernieren in eisgekühlter 0,9 % NaCl-Lösung gelagert.

Die Spendertiere wurden noch in der Narkose euthanasiert.

2.5.2. Nierenimplantation

Während der Präparation der Spendernieren wurden die Empfängerhunde auf einem zweiten Operations-

tisch für die Implantation vorbereitet.

Über einen medianen Bauchschnitt wurden die Hunde beidseitig nephrektomiert.

In der Fossa iliaca wurden die Iliacalgefäße aufgesucht und dargestellt. Jetzt wurde das Vena cava-Segment des "en-bloc Präparates" als Interponat der Vena iliaca externa jeweils proximal und distal End zu End anastomosiert. Die Anastomosierung der proximalen Aorta abdominalis erfolgte End zu End mit dem proximalen Ende der Ateria iliaca externa mittels fortlaufender Nahttechnik. Das distale Ende der Fuchsaorta und der Ateria iliaca des Empfängers wurden ligiert. Während der gesamten Anastomisierungszeit wurden die Nieren mit Kühlkissen und gekühlter physiologischer Kochsalzlösung auf niedere Temperaturen gehalten, um durch die kalte Ischämie die Schädigung der Nieren möglichst gering zu halten.

Durch die parallel erfolgte Vorbehandlung der Empfänger konnte die kalte Ischämiezeit auf 1,5 Stunden begrenzt werden.

Nach Öffnen der Gefäßklemmen zeigte eine rasche und gleichmäßige Farbänderung die erfolgreiche Revaskularisierung des Transplantates.

2.5.3. Implantation der Ureteren

Die Ureteren wurden an zwei Blasenabschnitten durch eine modifizierte Antireflexplastik nach Gregoir anastomosiert (GREGOIRE, 1957; PICHLMAYR et al., 1981).

Danach wurde nochmal die Lage der Transplantate überprüft und um eine sichere Lage zu gewähr-

leisten, noch mit einigen Heften an der Bauchwand befestigt.

2.6. Postoperative Behandlung

Die postoperative Therapie richtete sich nach dem Befinden der Tiere. Während der ersten zwei postoperativen Tage wurden alle Hunde mit 200 ml Vollelektrolytlösung (Apotheke) und zusätzlich mit 10 mg Lasix® (Furosemid-Na, Hoechst AG, Frankfurt/Main) infundiert, zur Steigerung der Diurese und der Nierenperfusion.

Die Fortsetzung der antibiotischen Therapie erfolgte mit dem bereits präoperativ eingesetzten Depot-Antibiotikum (Tardomyocel®, 0,1 ml/kg KG, Bayer Leverkusen) am 1. und 3. Tag post op.

Da es bei allen Tieren zu einer verminderten bis sistierenden Futteraufnahme kam, wurden sie mit einer Fettemulsion (Lipofundin 20 %, Braun, Melsungen) und einer Glukoselösung (5 %, Apotheke) infundiert.

Als Analgetikum wurde Propyphenazon (Baralgin®, Albert-Roussel) bei drei Hunden eingesetzt.

2.7. Klinische Parameter

2.7.1. Hämatologie

Aus dem täglich gewonnenen venösen Heparinblut wurden Hämatokrit (Hämatokritzentrifuge, Hettich, Tuttlingen), Hämoglobingehalt, Leukozyten und Erythrozytenanzahl (Clay Adams Hematology Analyzer

HA-3, Becton, Dickinson and Co., Parsippany, USA) bestimmt.

Zusätzlich angefertigte Blutausstriche wurden nach Pappenheim gefärbt und nach üblichen morphologischen Kriterien ein Differentialblutbild erstellt (BEGEMANN, 1978; HECKNER, 1981; KRAFT und DÜRR, 1981). Die Zellen wurden bei 1000-facher Vergrößerung mit einem Öl-Immersionsobjektiv (Zeiss Plan 100/1.25 Öl, Ocular x 10) unter dem Lichtmikroskop (Zeiss Lichtmikroskop Standard) ausgezählt.

2.7.2. Harnstoff und Kreatinin

Die schnelle Orientierung über die Nierenretentionswerte erfolgte durch die Serumharnstoffbestimmung mittels Teststreifen (Harnstoff Schnellsuchtest, Merckognost, Merck).

Später wurde eine exakte photometrische Bestimmung nach der Berthelot-Reaktion (Test Combination Harnstoff, Boehringer Mannheim) durchgeführt. Serumkreatinin wurde ebenfalls photometrisch nach der Methode von Jaffe mit Enteiweißung (Test Combination Creatinin, Boehringer, Mannheim) gemessen.

2.8. Immunologisches Monitoring

2.8.1. Feinnadelbiopsie und Aspirationszytologie

Die Feinnadelbiopsie ist eine risikoarme Methode zur Gewinnung zytologischer Informationen über die zelluläre Infiltration des Transplantates (HAMMER

et al., 1982).

Im Gegensatz zur Stanzbiopsie kann bei geringem Blutungs- und Verletzungsrisiko Stärke, Dauer und Verlauf zellulärer Abstoßungsreaktionen beurteilt werden.

Zur Durchführung erhielten die Hunde eine intravenöse Methohexital-Kurznarkose (100-140 mg Brevimythol-Natrium®, Lilly, Homburg).

Beide transplantierte Nieren wurden nach Oberflächendesinfektion (Kodan-Tinktur S&M, Norderstedt) palpiert und mit einer Kinderspinalnadel (22 G 31/2, Becton und Dickinson, San Augustin de Guardalix, Spanien) punktiert. Dabei war darauf zu achten, daß die Cortexareale speziell an den Nierenpolen und nicht am Nierenhilus oder Nierenbecken getroffen wurden.

Nachdem die korrekte Lage der Spinalnadel durch pulssynchrone Bewegung gesichert war, wurde mittels einer mit 2 ml Hank'scher Lösung (mit Kalzium und 100 I.E./ml Heparin) gefüllte Einmalspritze aspiriert.

Um sofort einen maximalen Sog zu erreichen, wurde die Spritze in eine Biopsiehalterung (Camecon AB, Täby, Schweden) eingespannt. Unter Sog wurde nun durch leichtes Hin- und Herbewegen der Biopsievorrichtung in Einstichrichtung Aspirationmaterial gewonnen. Sobald dieses im durchsichtigen Ansatzteil der Spinalnadel sichtbar wurde, wurde dieses noch unter Sog entfernt. Das gewonnene Aspirat wurde sofort in weiteren 4 ml heparinisierten Hank'scher Lösung suspendiert. Von dem bereits gewonnenen venösem Blut wurde ein Tropfen mit 2 ml heparinisierten Lösung vermischt.

Zur Weiterverarbeitung wurde Biopsiematerial und Blutsuspension mit einer Cytozentrifuge (Cytospin 2, Shandon, Runcom, England) bei 500 Upm für 5 Minuten auf Objektträger aufgebracht und nach Pappenheim gefärbt. Die Präparate wurden nach folgenden Kriterien lichtmikroskopisch bei 1000-facher Vergrößerung unter dem Ölimmersionsobjekt ausgewertet.

2.8.2. Morphologische Differenzierung

Nierenparenchymzellen

Für die Auswertung der Biopsiepräparate wurden grundsätzlich nur Präparationen mit mehr als 5 Parenchymzellen beurteilt. (HÄYRY et al., 1981). Dabei wurden folgende Parenchymzellen unterschieden:

Endothelzellen, Glomerulumzellen, proximale Tubuluszellen und distale Tubuluszellen.
Infiltratzellen.

Für die morphologische Differenzierung des Blut- und Feinnadelpräparates wurden jeweils 100 Zellen ausgezählt und der prozentuale Anteil der einzelnen Zellpopulationen bestimmt. Die Differenzierung erfolgte nach den bekannten hämatologisch-zytologischen Kriterien und umfaßte folgende Zellpopulationen:

Lymphozyten: kleine, große, große granulierte und aktivierte.

Lymphoblasten

Plasmablasten

Plasmazellen

Monozyten

Granulozyten: neutrophile segmentkernige, neutrophile stabkernige, eosinophile und basophile.

2.8.3. Corrected Increment

Die prozentuale Verteilung der einzelnen Zellpopulationen im Biopsiepräparat und im Blutpräparat gab das Maß für die Beurteilung der zellulären Infiltration der Transplantatniere. Da das Biopsiepräparat aber normalerweise mit einem unterschiedlich großen Blutanteil kontaminiert ist, wurden nun die Prozentzahlen des peripheren Blutes von denen der Biopsie subtrahiert. Durch diese Korrektur ergab sich die isolierte Infiltration des Organs (C.I.).

Da nun verschiedene Zellformen in unterschiedlich starkem Ausmaß an der Abstoßung beteiligt sind, wurden die einzelnen Zellpopulationen mit einem Wertigkeitsfaktor multipliziert.

So erhielten z.B. Blasten und Makrophagen den Faktor 1,0, Lymphozyten 0,1 und Monozyten 0,2 (Tab. 1).

Die Addition der einzelnen auf dieser Weise erhaltenen Zahlen gibt die Infiltration als numerischen Wert an und wird als Corrected Increment (C.I.) bezeichnet. Darin geht sowohl die Anzahl, als auch die Wertigkeit der beteiligten Zellen ein. (Tab. 2)

Tab. 1 Zellen und Wertigkeiten bei der Berechnung des "Corrected Increment"

Zelle	Wertigkeit
Plasmazelle	1
Plasmablast	1
Lymphoblast	1
akt. Lymphozyt	0,5
Large Granular Lymphozyt	0,2
Lymphozyt	0,1
neu. Granulozyt	-
eos. Granulozyt	0,1
baso. Granulozyt	-
Monozyt	0,2
Makrophagen	1

	Pc	Pb	Lb	aLY	LGL	Ly	Neu	Eos	Baso	Mo
FNB	-	1	-	1	1	3	75	1	-	18 -
-pB	-	-	-	-	-	5	85	4	-	7 -
	-	1	-	1	1	-	-	-	-	11 -
x	1	1	1	0,5	0,2	0,1	-	0,1	-	0,2 1
	-	1	-	0,5	0,2	-	-	-	-	2,2-
										Tot.= 3,9

Tab. 2: Beispiel der Berechnung des C.I.

Im allogenen Hundemodell wurde folgende Einteilung

für die Stärke der Infiltration getroffen (GEBHARD, 1985)

C.I.: 0 - 2 normale Infiltration
2 - 5 mittlere Infiltration
5 - x starke Infiltration

2.8.4. Mononukleäres Konzentrat und Granulozyten-separation

Jeweils 1 ml des heparinisierten Blutes (50 I.U./ml) wurden mit 9 ml Hank'scher Lösung (Apotheke) verdünnt und über 3 ml Ficoll-Isopaque (Apotheke) der Dichte 1.075 g geschichtet. Nach 20-minütigem Zentrifugieren bei 3000 Upm (Hettich Rotanta K oder S, Hettich, Tuttlingen) wurde der mononukleäre Ring über dem Ficoll abgehoben und in 0,9 % Kochsalzlösung resuspendiert. Nach zweimaligem Waschen und jeweils anschließender Zentrifugation bei 1500 Upm wurde der Überstand abgegossen und die Zellen mit kalzium- und magnesiumfreier, phosphatgepufferter Kochsalzlösung aufgefüllt.

Von der mononukleären Zellsuspension wurden Zytozentrifugenpräparate angefertigt und nach Pappenheim gefärbt.

Die morphologische Differenzierung erfolgte nach den selben Kriterien wie für die Biopsie- und Blutpräparate.

Für eine Beurteilung des Aktivierungszustandes wurden Lymphoblasten, Plasmablasten, Plasmazellen und aktivierte Lymphozyten als aktivierte Zellformen zusammengefaßt und als Prozentwerte errechnet.

2.9. Pathologie

Nach dem Tod der Tiere wurde in jedem Fall eine Sektion durchgeführt. Dabei wurden mit Ausnahme des Gehirns sämtliche Organsysteme makroskopisch inspiziert und Proben für die Histologie entnommen. Die pathologische und pathohistologische Begutachtung hat dankenswerterweise Prof. Dr. Gokel, Institut für Pathologie der Universität München, übernommen.

2.10. Statistik

Für die Berechnung der Dauer der Überlebenszeit wurde der Stichprobenumfang zunächst auf Normalverteilung untersucht und anschließend mit dem U-Test von Wilcoxon, Mann und Whitney (SACHS, 1984) untersucht.

Der Vergleich der Werte wurde mit der Kruskal-Wallis-Analyse durchgeführt (SACHS, 1984).

$$\text{Mittelwert} \quad : \quad \bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

$$\text{Standardfehler:} \quad sx = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n(n-1)}}$$

($\sum x$ = Summe der Einzelwerte; n = Anzahl der Einzelwerte)

D.

3. Ergebnisse

3.1. Überlebenszeit der Empfänger

Jeder Versuch wurde beendet, bevor die Tiere in ein terminales Urämiestadium kamen. Diese frühzeitige Euthanisierung der Tiere war sowohl ethisch wie wissenschaftlich zu rechtfertigen.

In Tabelle 3 sind die Überlebenszeiten und die Todesursachen der Empfängertiere aufgelistet.

Tab. 3: Überlebenszeiten (SVT) und Todesursachen der Transplantatempfänger

Hund Nr.	SVT	Todesursache
1	13 Tage	Urämie
2	5 Tage	Urämie
3	17 Tage	Gerinnungsstörung, Urämie
4	17 Tage	Urämie
5	2 Tage	Schock
6	6 Tage	Darminvagination
7	10 Tage	Urämie
8	4 Tage	Gerinnungsstörung
9	14 Tage	Urämie
10	2 Tage	Kreislaufversagen
11	8 Tage	Urämie

Nach Ausschluß von operativ oder anderweitig bedingten Komplikationen wurde von 6 Tieren die Überlebenszeit zur Auswertung herangezogen.

Die mittlere Überlebenszeit für diese an der Abstoßung gestorbenen Tiere war $13,0 \pm 3,8$ Tage.

Der Unterschied zur historischen Kontrollgruppe ($6,5 \pm 1,2$ Tage) ist hoch signifikant. ($p < 0,001$, U-Test)

Durch eine Therapie mit 15-DS wird eine Verlängerung der Überlebenszeit um 100 % erreicht.

Vergleicht man die Ergebnisse mit den Cyclosporin A behandelten Hunde (Böhm, 1985), so wird eine Verlängerung der Überlebenszeit im Vergleich zur CSA-Gruppe um 19,3 % erreicht.

Abbildung 1' zeigt die Überlebenszeit aller Versuchstiere sowie den Verlauf der an Abstoßung gestorbenen Tiere. In Abbildung 2 ist die Überlebenszeit der an Abstoßung gestorbenen Tiere im Vergleich zur Kontrollgruppe (historisch) graphisch dargestellt.

Tabelle 4 zeigt in einer Übersicht die Ergebnisse von Nierentransplantationen im System Fuchs-Hund, die bisher im Institut für Chirurgische Forschung ermittelt wurden.

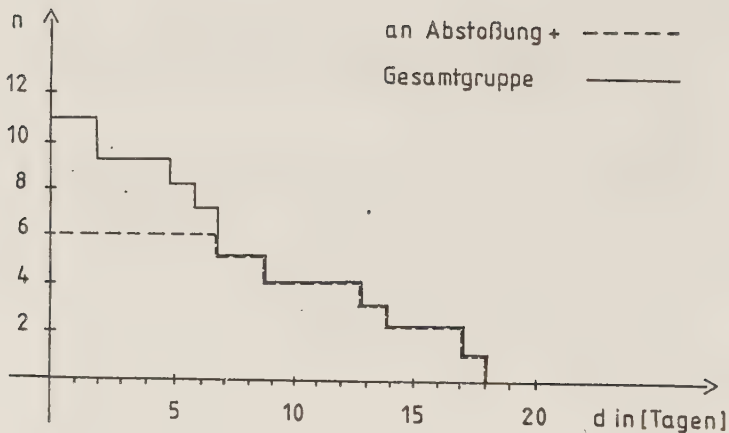


Abb. 1': Überlebenszeit aller Transplantatempfänger (n = 11).

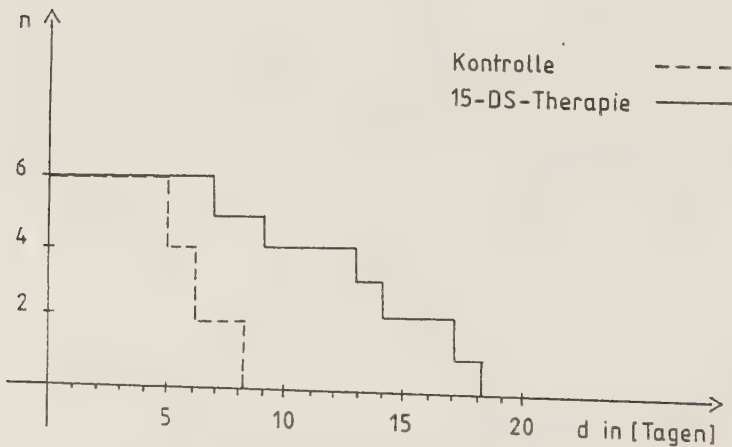


Abb. 2: Überlebenszeit der an Abstoßung gestorbenen Tiere (n = 6), und der unbehandelten Kontrolltiere (n = 6).

Tab. 4: Bisherige Nierentransplantationen im System
Fuchs-Hund

Literatur	Immunsuppression	Anzahl	SVT(Tage)
Hammer, 1972	-	6	$6,5 \pm 0,4$
Scheel, 1975	AMS	5	$15,8 \pm 0,7$
Scheel, 1975	ALG	9	$13,2 \pm 0,7$
Pongratz, 1975	ALG - AMS	7	$17,7 \pm 0,9$
Roscher, 1978	PIgG	5	$7,8 \pm 0,7$
Roscher, 1978	PIgG-ALG-Pred.	13	$20,2 \pm 0,7$
Krause, 1980	ALG-Fuchserv.	6	$14,3 \pm 2,8$
Böhm, 1986	CSA (+MP)	8	$10,9 \pm 3,0$
eigene			
Untersuchung 15-DS		6	$13,0 \pm 3,8$

3.2. Pathologie und Pathohistologie

Die Überlebenszeiten und Todesursachen wurden bereits in Tabelle 3 aufgelistet.

Zur mikroskopischen Begutachtung kamen alle Organsysteme, außer dem ZNS. Im folgenden werden alle pathohistologischen Befunde, der an Urämie verstorbenen Hunde kurz beschrieben.

Hund Nr. 1: Überlebenszeit 13 Tage

Niere 1 und 2: Jeweils komplette Nekrose des Rinden- und Markparenchyms. Unmittelbar subkapsulär ein hämorrhagischer Randsaum mit reichlich basophilem Zell- und Kernschutt. Vermutliche Ursache der Organnekrose ist eine arterielle Thrombose.

Harnblase: Chronisches Ödem der Harnblasenschleimhaut mit zum Teil polipöser Schleimhautvorwölbung.

Gefäßanastomose: Komplette Verlegung der Arterien und ein Verschluß der Venenlichtung durch frische Thromben.

Hund Nr. 3: Überlebenszeit 17 Tage

Niere 1 und 2: Jeweils in den Rindenbereichen fleckige, dichte interstitielle Infiltrate mit Lymphozyten und lymphoiden Zellen. Stellenweise eine geringe Destruktion der Tubuli, die mit Granulozyten angefüllt sind. Die proximalen Tubuli sind häufig leicht zystisch ausgeweitet und angefüllt mit desquamierten Kuppenstücken und Eiweißzylindern. Zusätzlich häufig eine auffällige Schwellung des Zytoplasmas um die Tubulusepithelien mit unterschiedlich starker Vakuolisierung. An einem Nierenstück zusätzlich Zeichen einer Abflußbehinderung mit Ausweitung der Kelchnischen und Sammelrohre und Abflachung der Markpapillen.

Harnblase: Herdförmig chronisches Ödem der Schleimhaut

mit geringer Fibrose.

Gefäßanastomosen: In einer Vene ein älterer, partiell organisierter Thrombus.

Hund Nr. 4: Überlebenszeit 17 Tage

Niere 1 und 2: Beide Nieren zeigen eine schwere zelluläre Abstoßungsreaktion, mit stellenweise auffälliger Vakuolisierung der Tubulusepithelien, vermutlich durch eine zusätzliche hypoxische oder toxische Schädigung.

Harnblase: Chronisches Schleimhautödem mit zarter Fibrose.

Gefäßanastomosen: Im perivenösen Fettgewebe ausgedehnte Nekrosen und chronisch granulierende Entzündung. An einer Stelle der Arterie eine bereits ältere Wandnekrose sowie eine partielle Verlegung der Lichtung durch älteres thrombotisches Material.

Hund Nr. 7: Überlebenszeit 10 Tage

Niere 1 und 2: Mittelschwere bis schwere akute zelluläre und humorale Abstoßungsreaktion mit stellenweise fibrinoiden Gefäßwandnekrosen.

Harnblase: Ausgedehnte, teils fibrinöse sowie chronisch granulierende unspezifische Entzündungen im adventitiellen Stromagewebe; daneben Fettgewebsnekrosen.

Harnblase: Ohne pathologische Veränderung.

Gefäßanastomosen: In mehreren Arterien- und Venenanschnitten frische Thrombosierung.

Hund Nr. 9: Überlebenszeit 14 Tage

Niere 1 und 2: Fleckige, teilweise perivenös akzentuierte lymphoplasmazelluläre Infiltrate, vorwiegend im Rindenparenchym und Bereich der Markkrindengrenze.

Die Veränderungen sind vereinbar mit einer mittelschweren akuten zellulären Abstoßungsreaktion. Die zusätz-

liche Ballonierung und Vakuolisierung der Tubulusepithelien steht vermutlich im Zusammenhang mit einer toxischen Schädigung.

Harnblase: Schwache Fibrose der Schleimhaut. Im Bereich der Ureterenimplantation geringe granulierende Entzündungen.

Gefäßanastomosen: Keine pathologischen Veränderungen.

Hund Nr. 11: Überlebenszeit 8 Tage

Niere 1 und 2: Schwerer tubulärer Schaden mit Ballonierung und Vakuolisierung der Tubulusepithelien sowie fleckigen Tubulusepithelnekrosen und Dilatation der Tubuli mit Eiweißzylindern. Herdförmig und perivaskulär akzentuierte interstitielle lymphozelluläre Infiltrate mit geringer Tubulusdestruktion.

Die Veränderungen weisen auf eine zelluläre Abstoßungsreaktion hin.

Harnblase: Geringes chronisches Ödem der Schleimhaut mit zarter Fibrose.

Gefäßanastomosen: Ohne pathologische Veränderung.

3.3. Postoperative Komplikationen

Es kam bei keinem Tier zu einer bakteriellen oder viralen Infektion. Dies wurde durch eine postoperativ weitergeführte antibiotische Behandlung (Tardomyocel comp III^R, Bayer Leverkusen) und eine soweit wie mögliche unter sterilen Kaudelen vorgenommenen Eingriffe am Tier möglich.

Gelegentliches Erbrechen während der 15-DS-Infusion konnte durch 10 mg Metoclopramid i.v. (Paspertin^R, Kali Chemie Hannover) kaum unterdrückt werden.

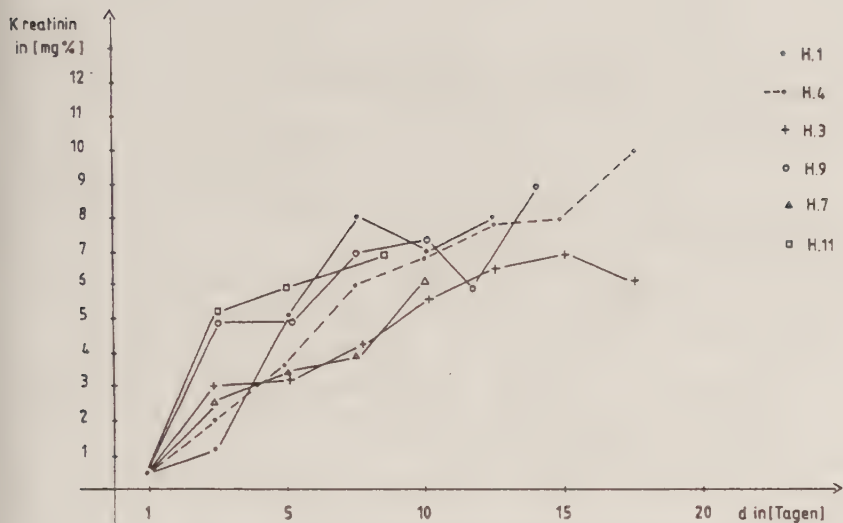


Abb. 3: Kreatininserumspiegel aller an Abstoßung gestorbener Hunde (H.)

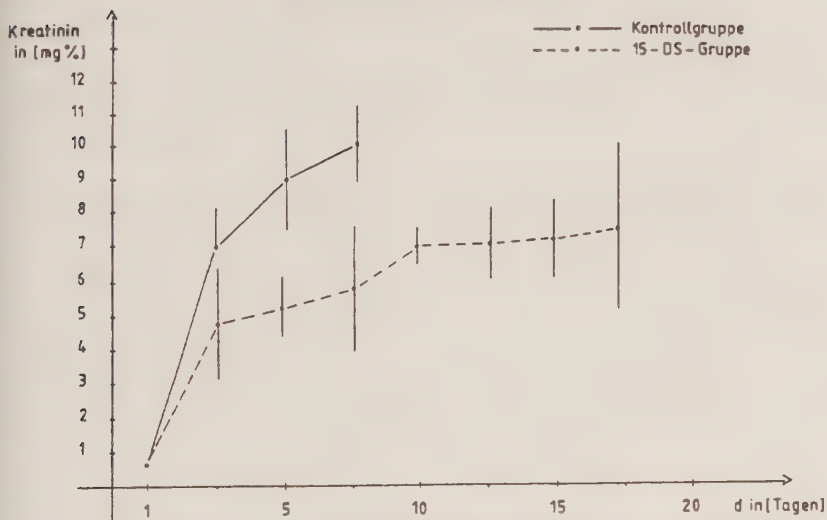


Abb. 4: Durchschnittliche Kreatininserumwerte der an Abstoßung gestorbenen Hunde. Zum Vergleich mit der unbehandelten historischen Kontrollgruppe

Auch verschiedene zentral wirkende Antiemetika konnten diese Anfälle nicht koupieren.

An weiteren Komplikationen (vergl. Tab. 3) sind 2 Fälle einer tödlich verlaufenden Gerinnungsstörung zu nennen. Beide Fälle waren durch eine starke Thrombozytopenie gekennzeichnet.

Ein Hund verstarb an einem Invaginationsileus, der wahrscheinlich durch starkes Erbrechen verursacht war. Zwei Tiere starben durch chirurgische Komplikationen. Bei einem Tier führte der starke Blutverlust zum Tod, das andere Tier erlag einem progredient verlaufendem Schock unbekannter Genese.

3.4. Verlauf der Kreatininserumspiegel

Die postoperativen Kreatininverläufe der an Abstoßung gestorbenen Tiere sind in Abb. 3 dargestellt.

Die Abb. 4 zeigt den Kreatininverlauf der mit 15-DS therapierten Hunde im Vergleich zu der unbehandelten Kontrollgruppe.

Die Kreatininwerte der therapierten Tiere lagen deutlich unter denen der Kontrolle mit Ausgangswerten um 0,8 mg %. Sie stiegen bis auf maximal 11 mg % am Tag 18 an.

Der Verlauf der Harnstoffwerte ist vergleichbar mit dem der Kreatininwerte.

3.5. Zelluläre Blutbestandteile

3.5.1. Erythrozyten

Präoperativ lag die Erythrozytenkonzentration bei allen Tieren bei $6,6 \pm 0,5 \times 10^6/\text{ml}$.

Postoperativ nahm sie bis zum Tag 7 p.op. nur leicht ab, um dann bis zum 17. Tag p.op. etwas stärker, bis zu $3,9 \times 10^6/\text{ml}$ abzunehmen (Abb. 5).

Der Hämoglobingehalt im Blut veränderte sich gleichsinig mit dem Erythrozytengehalt.

Die mittlere Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten (MCHC) lag bei allen Tieren während des Versuches bei $33,5 \text{ g/dl}$, im Normbereich.

Der mittlere Hämoglobingehalt des Einzelerythrozyten (MCH) war mit 21 pg physiologisch und veränderte sich nicht signifikant.

Auch das mittlere Erythrozythenvolumen (MCV) war mit durchschnittlich $63 \mu\text{m}^3$, während der gesamten Versuchsdauer im Normbereich.

Daraus läßt sich schließen, daß sich bei den Hunden eine normochrome und normozytäre Anämie entwickelt hat. Ein Grund dafür ist wahrscheinlich ein Erythropoetinmangel; es läßt sich aber nicht sagen, ob die Fuchsnieren zuwenig, oder ein für den Hund nicht wirksames Hormon produzieren.

Bei der morphologischen Untersuchung der Erythrozyten waren keine pathologischen Veränderungen sichtbar; der Anteil der Retikulozyten war mit $10 \text{ }^0/\text{oo}$ im Normbereich.

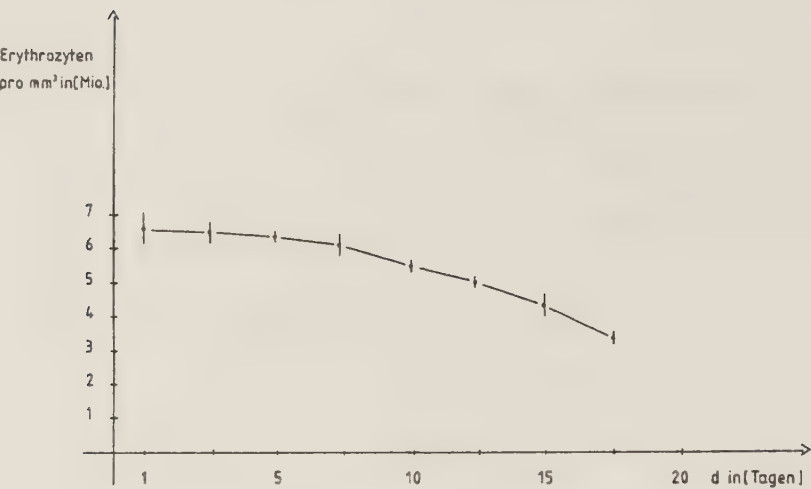


Abb. 5: Durchschnittliche Erythrozytenkonzentration der an Abstoßung gestorbenen Hunde

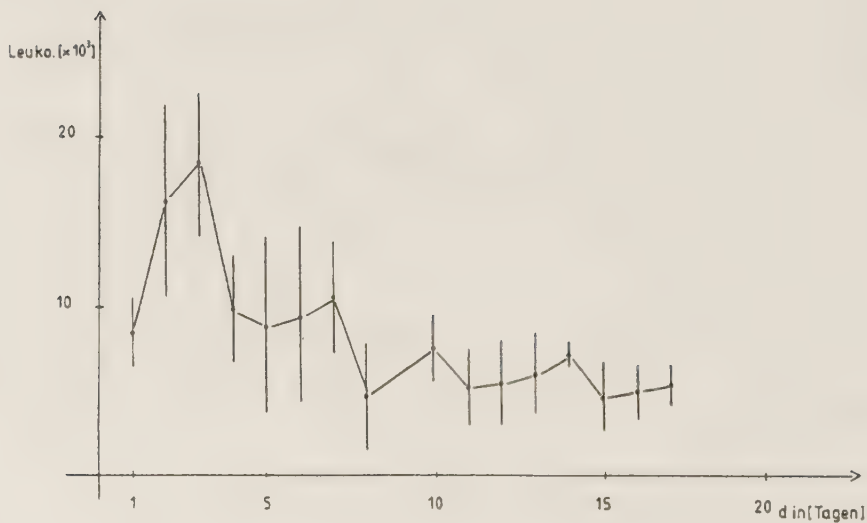


Abb. 6: Gesamtleukozyten im peripheren Blut

3.5.2. Leukozyten

Die Gesamtleukozytenzahl im peripheren Blut steigt postoperativ stark an und fällt innerhalb der ersten drei Tage post op. wieder deutlich ab. (Abb. 6)

Im weiteren Verlauf sinken die Werte kontinuierlich bis auf 4300/ μ l am Tag 17 ab.

Lymphozyten

Der prozentuale Anteil der Lymphozyten an den Gesamtleukozyten, im peripheren Blut ist großen Schwankungen unterworfen, steigt aber gegen Ende stark an (Abb. 7). Insgesamt bleiben die Werte noch innerhalb des Normbereiches.

Die absoluten Lymphozytenwerte im peripheren Blut bleiben dagegen relativ konstant und liegen zwischen 800/ μ l am Tag 1 und 2000/ μ l Tag 15.

Monozyten

Der prozentuale Anteil der Monozyten an den Gesamtleukozyten im peripheren Blut fällt bis zum Tag 4 post op. ab, um dann leicht und ab dem 13. Tag post op. fulminant anzusteigen (Abb. 8).

Betrachtet man den Durchschnitt der absoluten Monozytenzahlen, so liegen die Werte am Tag 1 bei 600/ μ l und steigen dann konstant bis zu 1300/ μ l am Tag 17 an.

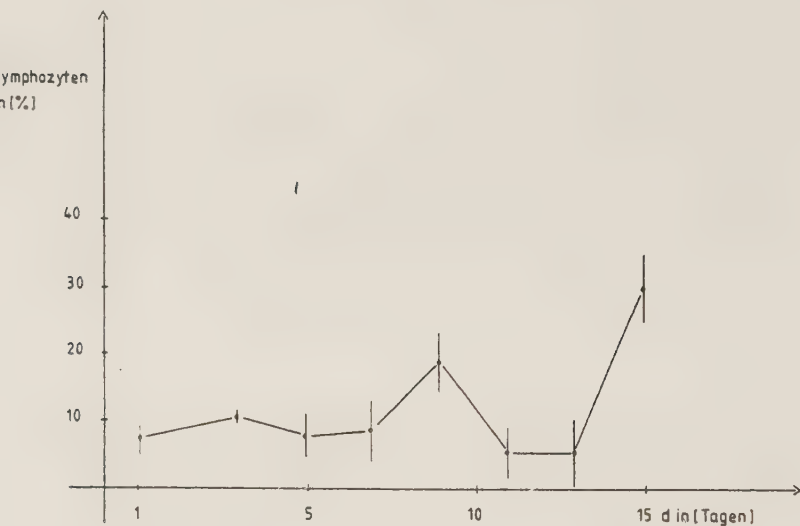


Abb. 7: Anteil der Lymphozyten an den Leukozyten im peripheren Blut [in Prozent].

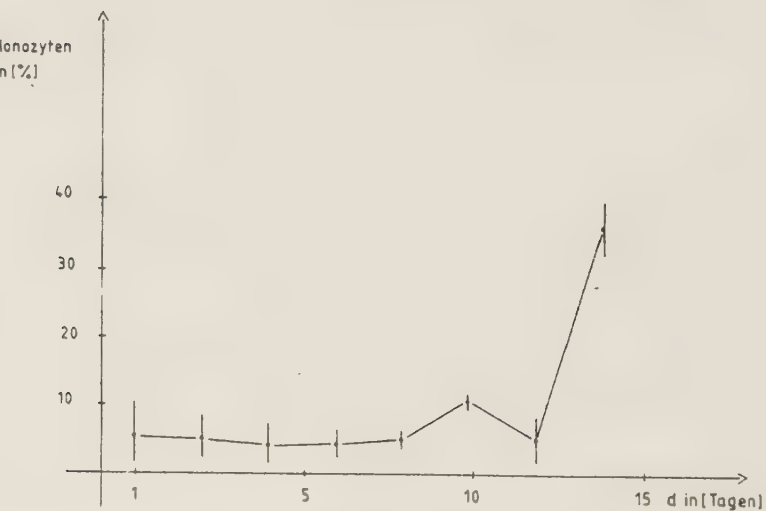


Abb. 8: Anteil der Monozyten an den Gesamtleukozyten im peripheren Blut [in Prozent].

Granulozyten

Der Anteil der Granulozyten an den Gesamtleukozyten im peripheren Blut hält sich mit der größten Beständigkeit zwischen 83 % zu Beginn und 71 % am Tag 13. Bei der Differenzierung waren auch kaum Basophile und Eosinophile (0 - < 1 %) zu finden (Abb. 9).

Die absoluten Werte dagegen sinken von 13400 zu Beginn auf 3300 pro μ l am Tag 17 ab.

3.6. Feinnadelaspirationszytologie

Die Technik der Feinnadelbiopsie mit zytologischer Auswertung wurde schon erfolgreich im konkordant-xenogenen Transplantationsmodell verwendet (BÖHM et al., 1986).

Es stellte dort seine Brauchbarkeit zur Erkennung akuter zellulärer Abstoßungsreaktionen unter Beweis.

Die Feinnadelaspirationszytologie wies eine zelluläre Infiltration mit vorherrschend Lymphozyten und Makrophagen auf (Abb. 10). Dies sind die Zellpopulationen, die wesentlichen Anteil am Wert des "Corrected Increment" haben.

"Large Granular Lymphocytes", aktivierte Lymphozyten und Blasten waren selten und nur in geringer Anzahl am Wert des C.I. beteiligt.

Die Lymphozyten steigen Anfangs stark an und bewegen sich unter großen Schwankungen auf 36 % Anteil zu.

Der Anteil der Monozyten im Aspirat steigt kontinuierlich von 5 % auf 18 % an.

Anteil
in [%]

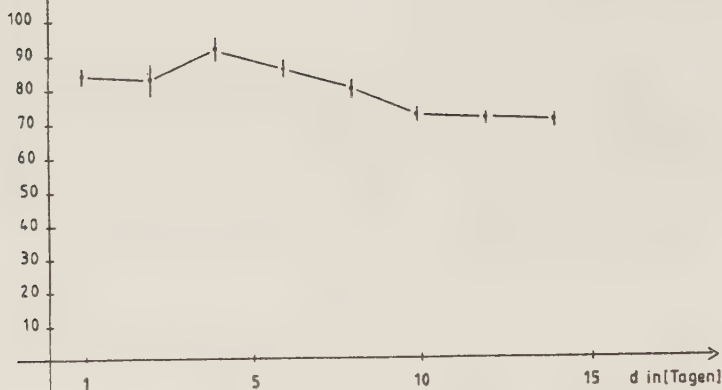


Abb. 9: Anteil der neutrophilen Granulozyten an den Gesamtleukozyten [in Prozent].

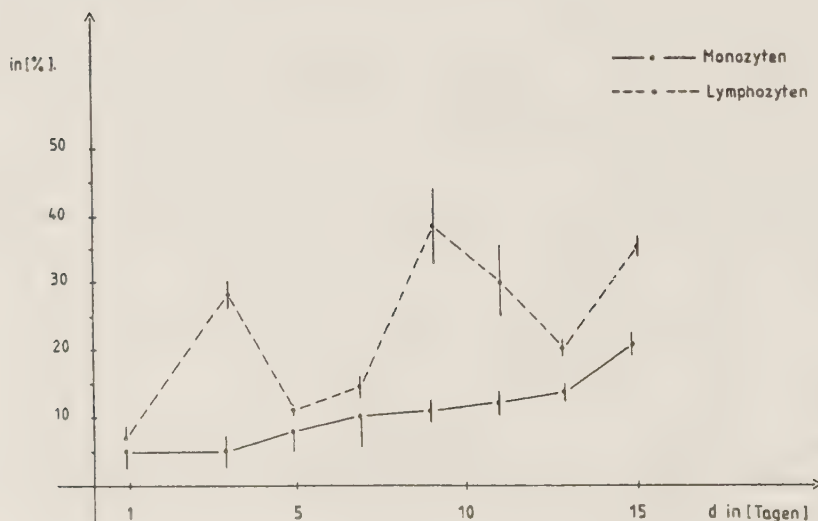


Abb. 10: Anteil an Monozyten und Lymphozyten im Feinnadelaspirat [in Prozent].

3.7. "Corrected Increment"

Der durchschnittliche C.I. Wert aller Tiere überschritt erst am Tag 12 den Wert 5,0, ab dem man von einer zellulären Abstoßung sprechen kann (Abb. 11).

Betrachtet man die C.I.-Werte einzelner Hunde (Abb. 12), so fällt auf, daß die Hunde 3 und 4 bis zum Tag 17 deutlich geringere Werte zeigten.

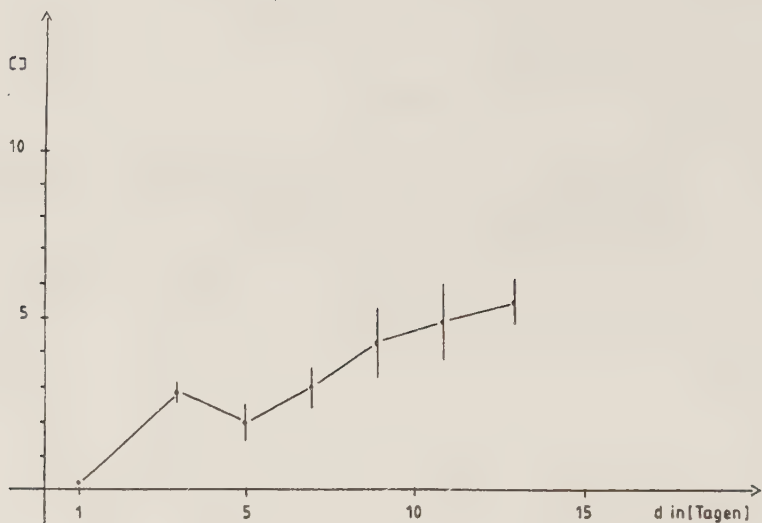


Abb. 11: Durchschnittliche C.I. Werte aller an Abstoßung gestorbenen Tiere

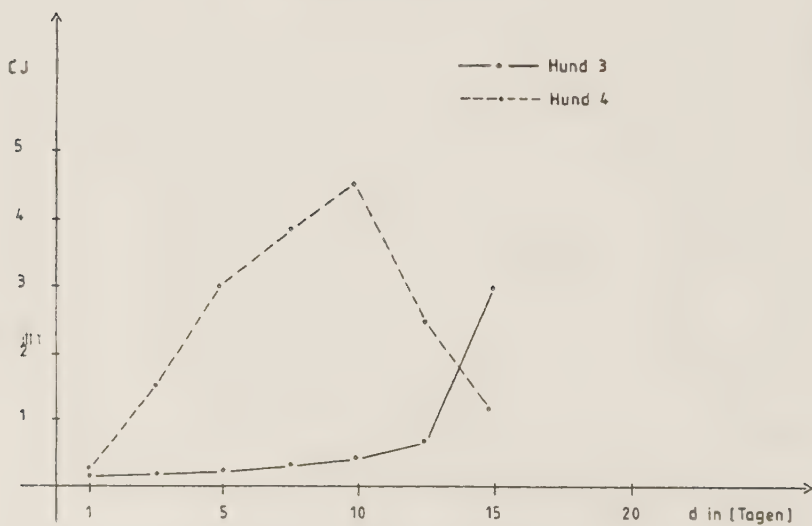


Abb.: 12: C.I. Werte von Hund 3 und 4

E.

4.1. Diskussion

4.1. Geschichtlicher Abriß der allogenen und xenogenen Organtransplantation

Die Geschichte der Transplantationschirurgie läßt sich weit in den Bereich von Mythen zurückverfolgen.

Plastische Hautautotransplantationen wurden bereits während vorchristlicher Zeit durchgeführt. Wissenschaftliche Transplantationsversuche beginnen im 18. Jahrhundert und finden im 19. sowie zu Beginn des 20. Jahrhunderts eine erstaunliche Verbreitung. Sie führen Mitte des 20. Jahrhunderts zur Definition der immunologischen Natur der Transplantatabstoßung.

Die klinische Epoche der Organtransplantation beginnt mit der Entdeckung der Blutgruppensubstanzen durch Landsteiner 1900 (nach Bluttransplantation = Bluttransfusion) und setzt sich mit der Einführung der Nierentransplantation in den Jahren 1950-1960 fort. Die derzeitige Situation muß wohl immer noch mehr dem Anfang als dem Ende dieser Epoche zugerechnet werden.

Erste wissenschaftliche Berichte über xenogene Transplantationen erscheinen Anfang des 20. Jahrhundert. Nachdem Ullmann 1902 im Tierexperiment erstmals eine Ziegenniere auf einen Hund transplantiert hatte, anastomosierte Jaboulay 1906 in zwei Fällen eine Schweineniere mit den Cubitalgefäßen von menschlichen Patienten. Bereits 1905 hatte Princeteau versucht, durch Einlegen von Gewebestücken einer Kaninchenniere bei Nephrotomie das Leben eines an terminaler Niereninsuffizienz erkrankten Mädchens zu retten.

1910 berichtete Unger in der "Berliner klinischen Wochenschrift" über den Versuch der Verpflanzung beider Nieren eines Schweinsaffen auf ein 21-jähriges Mädchen. Auch in den folgenden Jahren wurden weitere tierexperimentelle Versuche unternommen.

Transplantationsüberlebenszeiten bis zu 9 Monaten konnte Reemtsma 1963 mit auf den Menschen übertragenen Schimpansennieren verzeichnen. 1964 wagte sich Starzl ebenfalls an eine Nierenübertragung vom Affen auf den Menschen. Mit 11 transplantierten Paviannieren wurden Überlebenszeiten bis zu 60 Tagen erreicht.

Die meisten dieser Patienten starben nicht an einer Transplantatabstoßung, sondern an einer Sepsis in Folge der radikalen Immunsuppression mit Azathioprin, Prednison, lokaler Transplantatbestrahlung und Actinomycin.

1964 wurde von Hardy erstmals ein Schimpansenherz auf einen menschlichen Patienten übertragen, der Versuch scheiterte.

1969 begannen am Institut für Chirurgische Forschung der Universität München erste systematische Versuche über xenogene Transplantationen durch Hammer, Chaussy und Brendel.

Der jüngste Bericht einer xenogenen Organtransplantation auf den Menschen stammt vom 26. Oktober 1984, als Baily in Loma Linda, Kalifornien, einem zwei Wochen alten Baby mit hyperplastischem linken Ventrikel das Herz eines 5 Jahre alten Pavianweibchens einpflanzt.

Die letztgenannten Beispiele zeigen, daß xenogene Transplantationen nicht nur in der Forschung, sondern auch in der Klinik aktuell bleiben.

Im folgenden ist ein Auszug aus der Geschichte der Organtransplantation tabellarisch dargestellt (WAGNER, 1981).

I. Rekonstruktive Chirurgie und freie Gewebsübertragung als Wegbereiter der Organtransplantation

Zeitraum	Autor Referent	Art der Untersuchung oder Behandlung	Bedeutung
bis 1700	Mythos, Legenden, Überlieferung rekonstruktiver Chirurgie		
581-682	SUN SZU-MO (WONG M.) St. COSNAS ST. DAMIAN (SCARLETT E.P.) SHISHRUTA S.	Xenogene Herz-Lebertrans- plantation Amputation eines tumor- erkrankten Beines und allogene Transplantation Rhinoplastiken aus gestiel- ten Hautlappen	Legende Legende
1597	TAGLIOCOZZI G.	De chirurgica curtorum Schwenklappen und ge- stielte Hautlappen für rekonstruktive Eingriffe	Entwicklung technischer Voraussetzung für eine Gewebeübertragung
1700	Beginn der experimentellen Transplantationsforschung		
1744	TREMBLEY A.	Vereinigung von Süßwasser- polypen	Mechanische Vereinigung zweier Individuen
1745	BONNET CH.	Vereinigung von Süßwasserwürmern	
1771	HUNTER J.	Xenogene Zahnübertragung	Irrtümliche Annahme einer Überwindung der Indivi- dualitätsbarriere
ab 1800	Gewebeübertr.	systematische Untersuchungen - z.T. klin. Anwendung	
1804	BARONIO G.	Freie Hautübertragung (experimentell)	Beschreibung der unter- schiedlichen Einheilung von Auto- und Allotrans- plantaten
1818	REISINGER F.	Keratoplastik (experimentell)	Anregung für weitere Untersuchungen
1849	BERTHOLD R.	Hodentransplantation	Bericht über hormonelle Funktion und Spermato- genese nach Trans- plantation
1854	HAMILTON F.H.	Freie autogene Hautüber- tragung beim Menschen	Entwicklung der freien autogenen Gewebsüber- tragung zu einem klini- schen Behandlungsver- fahren
1869	REVERDIN J.L.		
1874	THIERSCH C.		
1861	OLLIER L.J.	Einfrieren und subcutane Verpflanzung von Periost	Entdeckung der Knochen- neubildung durch das Periost. Erste Kältekon- servierung von Geweben

1870	BAIKOV A.	Knochenübertragung	Erstmalige tierexperimentelle Untersuchungen
1878	ZAHN F.W.	Knorpelübertragung	verschiedenartiger Gewebeübertragungen
1881	GLÜCK T.	Muskel-Sehnen-Übertragung	
1883	KOCHER T.	Übertragung von Schilddrüsengewebe	
1884	ZAHN F.W.	Übertragung von Nierengewebe	
1889	McGILL A.F.	Xenogene Knochen- transplantation Kanninchen - Mensch	Erste Anwendung zur Defektüberbrückung
1892	MINKOWSKI	Übertragung von Pankreas- gewebe	
1896	GIARD A.	Definition und Differenzierung von sog. "autologen, homologen und heterologen" Transplantaten	
1897	ERHARDT O.	Übertragung von Milzgewebe	

II. Entwicklung der Organtransplantation

Zeitpunkt	Autoren	experimentelle oder klinische Operationstechnik
1899	DÖRFLER J.	Technisch erfolgreiche Arteriennaht
1902	ULLMAN E.	Erste Nierentransplantation am Hund
1908	CARREL A. und GUTHRIE C.C.	Perfektionierung der Gefäßnaht - Organperfusion, Organkonservierung durch Hypothermie Biochemische Parameter zur Untersuchung der exkretorischen Transplantatfunktion
1908	LEXER E.	Erfolgreiche allogene Gelenktransplantation beim Menschen
1912	CARREL A.	Experimentelle Nieren-, Milz-, Dünndarm- und Schilddrüsentransplantation sowie erste Versuche einer Herztransplantation
1926	WILLIAMSON C. IBUKA K.	Entwicklung einer neuen, in Modifikation bis heute angewendeten Operationstechnik der Nierentransplan- tation
1936	VORONOV U.	Allogene Nierentransplantation beim Menschen Experimentelle Operationstechniken
1933	MANN F.C. et al.	Heterotope Herztransplantation
1949	DEMOKHOV V.P.	Orthotope Herz-Lungentransplantation
1951	JUNELLE A.A.	Autotransplantation der Lunge
1955	WELCH C.S.	Auxiliäre Lebertransplantation
1961	LILLEHEI R.C. et al.	Autotransplantation von Magen und Dünndarm
1962	HURLEY et al.	Herztransplantation
1962	DE JODE R.L. et al.	Pankreastransplantation Klinische Operationstechniken
1963	HARDY J.D. et al.	Lungentransplantation
1963	STARZL T.E. et al.	Orthotope Lebertransplantation
1964	HARDY J.D. et al.	Xenogene Herztransplantation
1965	ABSOLON K.B. et al.	Heterotope Lebertransplantation
1967	BARNARD C.N.	Allogene Hertransplantation
1967	KELLY W.D. et al.	Pankreastransplantation

III. Erkenntnisse über die genetischen und immunologischen Voraussetzungen der Organtransplantation

Zeitpunkt	Autoren	Versuchsanordnung - Erkenntnisse
1804	BARONIO G.	Freie Hautübertragung im Tierversuch
1900	LANDSTEINER K.	Unterscheidung zwischen Auto- und Allotransplantat
1909	BORST M. und ENDERLEIN E.	Entdeckung unterschiedlicher Gewebsantigene- Blutgruppen
	TYZZER E.E.	Gefäß- und Nierentransplantation
1912	SCHÖNE P.	Identifikation "der Individualität" als Ursache einer Gewebsunverträglichkeit
1914	CARREL A. und	Entdeckung der genetischen Voraussetzungen für eine Tumorübertragung bei der Maus
		Zuordnung der Abstoßung eines Fremdtransplantates zu einem Immunprozeß
		1. Erkenntnisse über die Entwicklung des Abwehr- systems im Embryonalstadium - Tumorübertragung auf Rühnerembryonen
		2. Konzept einer systematischen Immunsuppression Lymphopenie nach Benzolverabreichung - Übertra- gung von Mäusetumoren auf Ratten
1924	Little C.C.	Postulat einer großen Anzahl von "Susceptibility factors", determiniert durch co-dominante Gene
1926	SHIRAI Y. MURPHY J.B.	Entdeckung eines sog. "immunologisch privilegi- gierten" Ortes
		Übertragung von Tumoren und Tuberkulose auf das Rattengehirn
1927	BAUER K.H.	Erkenntnisse über die Kompatibilität von Hauttrans- plantaten bei eineiigen Zwillingen
1939	LOEB L.	Theorie einer direkten zellulären Invasion und Zerstörung eines Transplantates
1938	GORER P.	Entdeckung des Haupthistokompatibilitätssystems der Maus
		Serologischer Nachweis gemeinsamer Antigenfaktoren auf Erythrozyten bzw. normalem Tumorgewebe bei Mäusen
1942-1945	MEDAWAR P.B. GIBSON T.	Nachweis der aktiven Entwicklung eines Immunpro- zesses "second-set"-Reaktion
1948	CRADDOCK C.G. LAWRENCE J.S.	Entdeckung der immunsuppressiven Wirkung der Ganz- körperbestrahlung; verminderte Antikörperbildung gegen Fremdantigen
1953	BILLINGHAM R.E. BRENT L. und MEDAWAR P.B. HASEK M.	Entdeckung der aktiv erworbenen, spezifischen Immuntoleranz

1954	BILLINGHAM R.E.	Entdeckung der passiven Übertragbarkeit einer Immunreaktion durch Lymphozyten
1958	DAUSSET J. KALISS N.	Entdeckung des HLA-Systems Entdeckung des aktiven und passiven immunologischen Enhancement
1960	GOVAERTS A.	Entdeckung der direkten Schädigung der Zielzelle
1961	ROSENAU W. MOON H.D.	durch Lymphozyten in vitro
1963	BAIN B. et al.	Antwort immunkompetenter Zellen in vitro. Blastenbildung. ³ H-Thymidin-Inkorporation
1965	McDEVITT H.O. SELA M.	Entdeckung von MHC-gekoppelten Ir-Genen
1973	v. mehreren Autoren	Entdeckung der Ia-Antigene
1974	ZINKERNAGEL R.M. DOHERTY P.C.	Entdeckung der MHC-Restriktion gegen mikrobielle Antigene
1975	BEVAN M.J.	Entdeckung der MHC-Restriktion gegen schwache Histokompatibilitätsantigene

IV. Entwicklung der Nierentransplantation zu einem klinischen
Behandlungsverfahren

Zeitpunkt	Autoren	Experimenteller oder klinischer Beitrag
1902	ULLMANN E.	Erste technisch erfolgreiche experimentelle Nierentransplantation
1906	JABOULAY M.	Xenogene Nierentransplantation beim Menschen-heterotope Transplantatlokalisation Spende: Ziege, Schwein
1910	UNGER E.	Übertragung von Primatennieren auf den Menschen
1936	VORONOV U.	Allogene Nierentransplantation beim Menschen
1948	CRADDOCK C.G. LAWRENCE J.S.	Experimentelle Immunsuppression durch Ganzkörperbestrahlung
1950	LAWLER R.H. et al.	Intraabdominelle Lokalisation eines allogenen Nierentransplantates
1951	KÜSS R. et al.	Lebendspende von Nierentransplantaten
1951-1955	BAKER R. et al. DUBOST C. et al. HUME D. et al.	Immunsuppression mit ACTH oder Glucocorticoiden; Lebensverlängerung durch Nierentransplantation
1953	MICHON L. et al.	Verwandtenspende von Nierentransplantaten
1954	MURRAY J.E. et al.	Zwillingstransplantation
1958	MURRAY J.E. et al.	Ganzkörperbestrahlung des Transplantatempfängers
1959-1962	SCHWARTZ R. und DAMESCHECK W. CALNE R.Y. MURRAY J.E. et al.	Entdeckung der immunsuppressiven Wirkung "radiometischer" Substanzen und deren klinische Anwendung
1964	CALNE R.Y. et al.	Systemische Immunsuppression mit 6-Mercaptopurin und Glucocorticoiden
1964	TERASAKI P.J. et al.	Histokompatibilitätstestung
1964	FRANKSSON C.	Immunsuppression durch Lymphdrainage
1966	STARZL T.E.	Immunsuppression mittels Antilymphozytenserum

V. Entwicklung der xenogenen Transplantation

Zeitpunkt	Autoren	Organ	Spezies-Kombination
1902	ULLMANN	Niere	Ziege/Hund
1905	PRINCETEAU	Niere	Kaninchen/Mensch
1906	JABOULAY	Niere	Schwein/Mensch
1910	UNGER	Niere	Affe/Mensch
1924	AVARMOVICI	Niere	Katze/Hund
1964	STARZL	Niere/Leber	Pavian/Mensch
1964	REEMTSMA	Niere	Schimpanse/Mensch
1964	HARDY	Herz	Schimpanse/Mensch
1966	PERPER	Niere	Schaf/Ziege
1968	COOLEY	Herz	Schaf/Mensch
1971	CHAUSSEY	Niere	Katze/Hund
1972	HAMMER	Niere	Schaf/Hund
1973	HAMMER	Niere	Schwein/Hund
1975	HAMMER	Niere	Wolf/Hund
1974	SHONS	Niere	Schaf/Mensch
1975	KAKITA	Herz	Hamster/Ratte
1976	KEMP	Niere	Kaninchen/Katze
1977	BARNARD	Herz	Pavian/Mensch
1984	BAILEY	Herz	Pavian/Mensch

4.2. Versuchsmodell Fuchs-Hund

Bisherige Untersuchungen zeigten, daß das Schicksal xenogener Transplantate weitgehend vom zoologischen Verwandtschaftsgrad zwischen Spender und Empfänger abhängt (Tabelle 5).

Hierbei spielen die präformierten natürlichen Antikörper (PNAK) eine bedeutende Indikatorrolle. Sie bestimmen nicht nur die Überlebenszeit der Transplantate, sondern auch die Art der Abstoßungsreaktion.

Je weiter entfernt die zoologische Verwandtschaft der Transplantatpartner ist, desto höher ist der Titer an PNAK und umso schneller erfolgt die Abstoßung (BRENDDEL, W., HAMMER, C., CHAUSSY CH., 1981).

Daher erlaubt die Untersuchung der PNAK, eine Aussage auf den zu erwartenden Modus der Abstoßungsreaktion (Abb. 13).

Bei Spender-Empfängerkombinationen mit hohen Titern von PNAK, vorzugsweise zwischen zwei zoologischen Ordnungen anzutreffen, erfolgt die Abstoßung als hyperakute xenogene Abstoßungsreaktion (HXAR). Diese Form der Abstoßung ist vor allen Dingen durch den Zeitpunkt des Auftretens charakterisiert. Sie entwickelt sich bereits sehr früh nach der Transplantation und kann bei primär vaskularisierten Transplantaten unter Umständen noch während der Operation beobachtet werden. Das transplantierte Organ zeigt dann, nach Freigabe der Durchblutung, nur für kurze Zeit normale Farbe und Konsistenz, wird anschließend fleckförmig zyanotisch und schwillt an. Wenn die hyperakute Abstoßung erst einige Stunden nach der Transplantation einsetzt,

Organ	Transplantationskombination	SVT
Niere	Schwein/Hund	15-30 min.
Niere	Schaf/Hund	30 min.
Niere	Katze/Hund	15-24 h
Niere	Fuchs/Hund	6,5 d
Niere	Hund/Hund	8-10 d
Niere	Wolf/Hund	19.1 d
Herz	Schimpanse/Pavian	6,5-84 d
Herz	Ratte/Maus	3 d
Herz	Hamster/Ratte	3,6->100 d
Haut	Kaninchen/Ratte	8,2-16,3 d
Leber	Hamster/Ratte	7.0-17.6 d

Tab. 5: Abhängigkeit der Transplantatüberlebenszeit (SVT) vom phylogenetischen Verwandtschaftsgrad der Spender-Empfänger-Kombinationen.

kann das Erlöschen der bereits aufgenommenen Funktion das erste Symptom sein. Die hyperakute Abstoßung wird in der Regel durch Antikörper vermittelt (PNAK). (PATEL und TERASAKI, 1969; MORRIS et al., 1970). Dies schließt jedoch nicht aus, daß gelegentlich auch hyperakute Abstoßungen durch zellvermittelte Immunmechanismen zustande kommen können (KRISTENSEN et al. 1976, WIEDERMANN et al. 1977, KIRKMAN et al. 1979). Die fehlende Latenzzeit für die Entwicklung von Abstoßungssymptomen zeigt an, daß die entsprechenden Antikörper oder sensibilisierten Zellen nicht neu gebildet wurden, sondern bereits im Empfänger vorhanden waren. Eine derartige Situation ist nicht nur bei xenogenen Transplantationen, sondern auch bei der Übertragung vaskularisierter Transplantate in ABO-inkompatiblen Kombinationen gegeben.

Die unter klinischem Gesichtspunkt wichtigste Ursache für die Entwicklung einer hyperakuten Abstoßung im allogenen System, ist die Vorsensibilisierung gegen HLA-Antigene des prospektiven Transplantatspenders durch vorausgegangene Bluttransfusionen, Schwangerschaften oder Organtransplantationen.

Die Transplantatschädigung wird durch eine Reaktion der zirkulierenden Antikörper mit den Gefäßen des Transplantates ausgelöst. Durch die Bindung der Antikörpermoleküle an die Transplantatzellen werden sekundär unspezifische Eliminationssysteme aktiviert.

Dies ist eine komplementabhängige Lyse der Zellen als Folge der Opsonierung durch PNAK (HAMMER, 1972).

Die Lyse der "Targetzellen" durch Komplement C 1-9

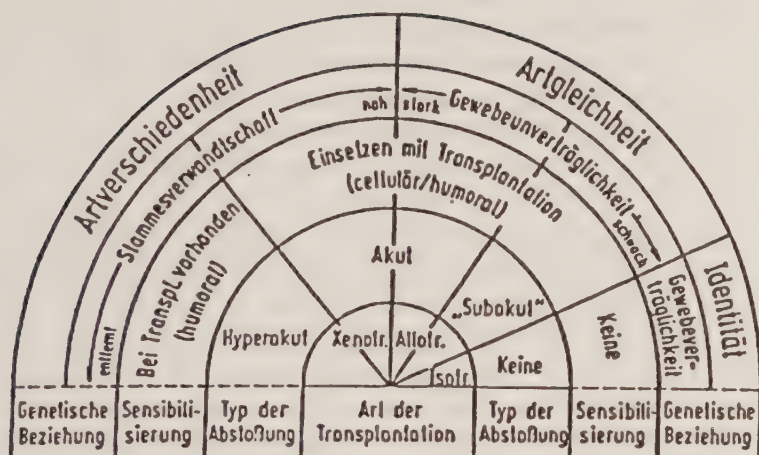


Abb. 13: Aus W. Land (1971):

Typ der Transplantatabstoßung in Abhängigkeit vom genetischen Spender-Empfänger-Verhältnis. Wachsende Heftigkeit der Abstoßungsreaktion bei zunehmender genetischer Disparität von Spender und Empfänger.

(Xenotr. = Xenotransplantation)

(Allo. = Allotransplantation)

(Isotr. = Isotransplantation)

oder C 5-9 in Zusammenhang mit I_gM-Antikörpern ist heftig und wird gefolgt von weiteren zytotoxischen Reaktionen, wie z.B. enzymatischen Mechanismen.

Besonders wichtige Reaktionen sind neben der Aktivierung des Komplementsystems die Auslösung von Gerinnungsprozessen sowie die Aktivierung von Makrophagen und Granulozyten. Als Ergebnisse der komplexen Reaktionen kommt es zu einer Verlegung der Endstrombahn und damit sehr schnell zu einer Nekrose des gesamten Organs.

Das histopathologische Bild ist in der frühen Phase vor allem durch sehr ausgeprägte Veränderungen der Transplantatgefäße gekennzeichnet.

Charakteristisch sind schwerste Schädigungen des Endothels sowie intravasale Thrombozytenaggregationen und Fibrinniederschläge, weiterhin eine starke Anhäufung von Granulozyten im Gefäßlumen und im Interstitium, sowie multiple Hämorrhagien (WONIGEIT, 1981).

Eine therapeutische Beeinflussung der hyperakuten Abstoßung ist bisher nicht möglich (HARDY, 1984).

Bei Spender-Empfänger-Kombinationen ohne nachweisbarem Titer von PNAK, innerhalb einer zoologischen Familie, wird die Abstoßungsreaktion von zellulären Mechanismen getragen. Nur in Ausnahmen werden hier antikörperabhängige Reaktionen gefunden (HAMMER, 1974). Grundsätzlich kommt es, wie in anderen zellulären Immunreaktionen, zu einem invasiv destruktiven Prozeß im Parenchym des Transplantates, hervorgerufen durch mononukleäre Zellen. Abhängig vom Charakter des Gewebes werden die morphologischen Bilder mehr von Lymphozyten oder mehr von Makrophagen beherrscht (GORER, 1956;

AMONS, 1956).

Die Zerstörung der Gefäße ist der früheste Prozeß in allogenen und nah verwandten xenogenen Geweben, hervorgerufen durch die Invasion von zytotoxischen Zellen, gefolgt durch Infarzierung der Transplantate und der damit verbundenen Ischämie (MITCHISON, 1954).

Diese beiden völlig verschiedenen Abstoßungen scheinen abhängig vom phylogenetischen Verwandtschaftsgrad fließend ineinander überzugehen.

Die nahverwandten Systeme (intrafamiliär) weisen eine Überlappung beider Reaktionen auf, bei der je nach Disparität der humorale oder zelluläre Typ überwiegt.

Aus diesen Gründen bieten intrafamiliäre Transplantationsmodelle, wie z.B. Fuchs-Hund oder Pavian-Mensch, gute Voraussetzung für das Überleben der Transplantate. Für diese, auch als konkordant bezeichneten Kombinationen gilt, daß sie sich ähnlich wie Allotransplantate verhalten, also vorwiegend zelluläre Abstoßungsmechanismen induzieren (BRENDDEL, HAMMER, CHAUSSY, 1981).

Immungenetische Marker im System Fuchs-Hund

Untersuchungen über die genetische Disparität ergaben, daß der Fuchs eindeutige Histokompatibilitätsunterschiede im Vergleich zum Hund aufweist. Betrachtet man die genetische und zoologische Disparität im Modell Fuchs-Hund, so ergeben sich viele Analogien zu der Kombination Schimpanse-Mensch. Auch bei den folgenden immunologischen und biochemischen Betrachtungen beider Systeme zeigen

sich viele Parallelen. Dadurch lassen sich viele Aussagen auch auf die humane Xenotransplantation übertragen.

Bei der Gewebetypisierung sind Hunde-allo-antiseren in der Lage, mit 90 % Reproduzierbarkeit 12 DL-A- (Dog Leucozytes Antigen) Spezifitäten zu erkennen. Diese DL-A-Haplotypen liegen auf zwei Allelen des Chromosoms, auf dem der gesamte MHC "mayor histocompatibility complex" (MHC) liegt.

Bei Füchsen konnten nur solche Alloantiseren von Hunden, die aus Langzeitimmunisierungsversuchen stammen und ein relativ breites Antikörpermuster tragen, einen Polymorphismus der DL-A-Antigene nachweisen.

Ein voller Haplotyp konnte somit bei Füchsen nicht nachgewiesen werden (HAMMER, 1974).

Erythrozytenantigene

Während bei Mischlingshunden alle 8 bisher bekannten Erythrozytenantigene bestimmbar sind (CEA 1-8), konnten bei den Füchsen nur die Antigene CEA 7 u. 8 sicher festgestellt werden (HAMMER, 1974).

Schimpansen besitzen ebenfalls zwei Blutgruppen (A u. O), die mit den menschlichen identisch sind. (WIENER und MOOR-JANKOWOSKI, 1963).

Isoenzymmuster

Die elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit der Isoenzyme der Erythrozyten zeigt deutliche Variationen. Im System der Adenylkinase (AK) sind

keine Unterschiede zwischen Fuchs und Hund in der Wanderung zu sehen.

Während sich die 6-Phosphogluconatdehydrogenase (6-PGD) des Hundes einheitlich mit einer Bande bewegt, sind beim Fuchs deutlich 3 Banden zu erkennen (HAMMER, 1974).

Ähnliches trifft auch für Mehrzahl der Enzyme des Schimpansen im Vergleich zu denen des Menschen zu (KING und WILSON, 1975).

Serumelektrophorese

Mit Hilfe der gewöhnlichen Elektrophorese gelingt es nicht, Unterschiede zwischen den Kaniden zu finden.

Die Immunelektrophorese, besonders die zweidimensionale, zeigt dagegen deutliche Unterschiede.

Die Serumproteine von Füchsen und Hunden besitzen unterschiedliche Molekulargewichte von Albumin und Globulin.

Chromosomenanalyse

Charakteristisch für die Karyotypen des Hundes (*Canis familiaris*) ist, daß alle Autosomen terminal gelegene Zentromere besitzen. Zwischen den verschiedenen Zellen desselben Individuums bestehen große Variationen.

Das größte Chromosomenpaar ist weit größer als alle anderen Autosomenpaare. Das X-Chromosom, eines der größten im Satz, ist ähnlich wie das Y-Chromosom mit einem submedialen Zentromer ausgerüstet.

Die Chromosomenzahl des diploiden Chromosomensatzes beträgt bei beiden Geschlechtern $2n=78$.

Die Chromosomenzahl der Füchse (*Vulpes vulpes*) variiert stärker als die des Hundes. Der diploide Chromosomensatz bewegt sich zwischen $2n=34$ bis $2n=40$, gewöhnlich beträgt er aber 38 Chromosomen. Der Karyotyp wird durch eine Gruppe von 16 Chromosomen charakterisiert, die ein medial bis submedial gelegenes Zentromer besitzen.

Die kleinere Gruppe von fünf Mikrosomen beim Rüden und vier bei der Fähe dürften durch ihre schwierige Differenzierung für die Schwankungsbreite verantwortlich sein. Der Schimpanse mit 48 Chromosomen ($2n$) unterscheidet sich vom Menschen ($2n=46$) nur um ein Chromosomenpaar.

Alle genannten Marker sind nicht an das Geschlecht oder den Phänotyp der Tiere gekoppelt.

Größenverhältnis Hundeniere:Fuchsniere

Die Unterschiede im Größenverhältnis Fuchs-Hund (ca. 4 kg: 10-12 Körpergewicht) konnte durch die "en-bloc"-Transplantation der Nieren kompensiert werden.

Das mittlere Gewicht der Füchse betrug etwa $1/3$ des Gewichtes der Empfänger. Geht man davon aus, daß das Verhältnis von Körpergewicht zu Nierengewicht bei Spender und Empfänger das gleiche ist, dann hätte eine Fuchsniere etwa $1/3$ des Gewichtes einer Hundeniere.

Da mittels der "en-bloc" Transplantation jeweils zwei Fuchsnieren verpflanzt wurden, standen

folglich 2/3 des Parenchyms einer Hundeniere zur Verfügung.

Es ist bekannt, daß transplantierte Kindernieren eine ausreichende Parenchymmenge besitzen, um die Nierenfunktion nephrektomierter Erwachsener zu übernehmen.

Durch frühere Untersuchungen konnten diese Annahme bestätigt werden (SCHEEL, 1976).

Da in diesem Versuchsmodell schon viele Ergebnisse ohne und mit anderen Immunsuppressiva vorliegen, läßt sich daß 15-DS mit den schon untersuchten Substanzen vergleichen.

Dies war wichtig, um die gewonnenen Erkenntnisse, besonders im Hinblick auf die immunsuppressive Potenz und eine mögliche Toxizität, richtig bewerten zu können.

Betrachtet man die experimentelle xenogene Nierentransplantation von chirurgischer Seite, kommt man zu dem Ergebnis, daß der Hund aufgrund seiner Größenverhältnisse ein ideales Versuchstier ist.

4.3. Überlebenszeiten im Vergleich

Die Überlebenszeit der Tiere nach Nierentransplantation ist einer der wichtigsten Parameter zur Beurteilung der immunogenen Potenz einer Substanz. Das prinzipielle und bisher weitgehend ungelöste Problem der Transplantation ist die Abstoßung. Sie wird ausgelöst durch die Auseinandersetzung des Immunsystems mit den fremden Transplantationsantigenen des übertragenen Organs, sofern dieses von einem vom Empfänger genetisch differenten Individuum stammt.

Das Problem der Abstoßung - und damit der Länge der Überlebenszeit nach der Transplantation - kann von zwei Seiten aus angegangen werden:

Erstens die Modifikation des Immunprozesses oder zweitens die Verminderung der Antigendifferenz zwischen Spender und Empfänger durch Histokompatibilitätstestung.

Will man einen Überblick über andere immunsuppressive Medikamente im Vergleich zu 15-DS geben, geschieht dies am besten anhand des Ablaufes einer allgemeinen Abstoßungsreaktion. Hieran kann der Modus der immunsuppressiven Wirkungsweise, die von einer generellen Unterdrückung bis zur Induktion spezifischer immunologischer Reaktionslosigkeit gegen einzelne Antigene reicht, am besten gezeigt werden.

Der Nachteil einer allgemeinen Immunsuppression ist der, daß auch die physiologisch notwendigen Antworten gegen Infektionen und gegen maligne entartete Zellen unterdrückt werden, was mit einem hohen Risiko für den Patienten verknüpft ist. Die bisher übliche Behandlung stellt daher einen

Kompromiß dar, bei dem versucht wird, mit der geringsten verantwortbaren Immunsuppression ein optimales Transplantatüberleben zu erreichen, ohne den Patienten allzu sehr zu gefährden.

Ablauf einer Abstoßungsreaktion

Unser heutiges Wissen über die Mechanismen, die die Organabstoßung induzieren und tragen sind in den Abbildungen 13 und 14 zusammengefaßt.

Antigen präsентierende Zellen, besonders Makrophagen, sind notwendig, um das Antigen in eine Form zu bringen, die von den Lymphozyten erkannt werden kann.

Weiterhin geben die antigen-präsentierenden Zellen ein zweites Signal, Interleukin 1, um die Lymphozyten zu aktivieren.

Interleukin 1 ist nicht nur wichtig für die Lymphozytenaktivierung von T_h Helferzellen, sondern auch für die Aktivierung zytotoxischer T_c und B-Zellen.

Die Aktivierung der T_h Helferzellen durch das Antigen ist der Drehpunkt für die Entwicklung der Immunantwort gegen das Transplantat.

Einmal aktiviert, setzen diese Zellen Interleukin 2 frei. Dieses ist wiederum ein wichtiger Kofaktor für die Aktivierung von T_c und B-Zellen.

Als Konsequenz auf die Antigenexposition und der Interleukinwirkung, proliferieren jene Zellklone, die das Antigen erkannt haben und produzieren Effektorzellen.

Die Effektor T-Zellen, werden aus dem Lymphgewebe via Blut in alle Gewebe ausgeschwemmt, einschließlich in das des Transplantates, welches sie nach

Antigenerkennung schädigen.

Die T-Zell-vermittelte Transplantatzerstörung ist wahrscheinlich der bedeutendere Effektormechanismus. Der genaue Vorgang, durch den die T-Zellen das Transplantat zerstören, wird noch kontrovers diskutiert.

Effektor-T-Zellen, die imstande sind, transplantierte Gewebe zu zerstören, entwickeln sich aus T_4 und T_8 Subklassen (Abb. 14 u. 15).

Die Wirkung gegen transplantiertes Gewebe ist bei beiden Subklassen ähnlich, der einzige Unterschied ist, daß T_8 -Zellen nur HLA-A, -B antigenträgende Zellen erkennt, während T_4 -Zellen HLA-DR-tragende Zellen erkennt.

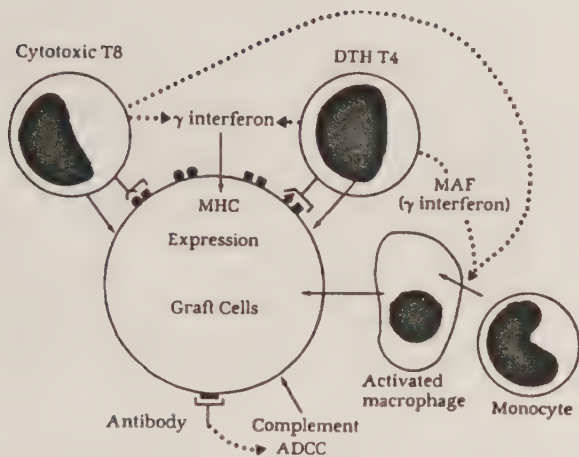
Beide, T_4 u. T_8 , können durch zytotoxische T-Zellmechanismen direkt Zellen zerstören. Trotzdem ist der wichtigste "Arbeitsmechanismus" ihre Freisetzung von Lymphokinen, besonders von Gamma-Interferon.

Dieses besitzt zwei bedeutende Wirkungen. Zum einen induziert es eine erhöhte Expression von HLA-A, B und HLA-DR an der Zelloberfläche, welches das Transplantat empfindlicher für die Effektormechanismen macht.

Zweitens aktiviert es die Monozyten im Sinne einer zellvermittelten Überempfindlichkeit gegen das transplantierte Gewebe (SIMMONS, 1985).

In diesem komplexen Prozeß der Immunantwort greifen die Immunsuppressiva an unterschiedlichen Stellen ein.

Für den Vergleich mit dem 15-DS sollen hier nur die wichtigsten Stoffgruppen und die damit erreichten Überlebenszeiten im Modell Fuchs-Hund, aufgezählt werden.



ADCC = antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity

DTH = delayed-type hypersensitivity reaction

MAF = macrophage activation factor

MHC = major histocompatibility complex

Abb. 14: nach SIMMONS (1985), Transplantatabstoßung

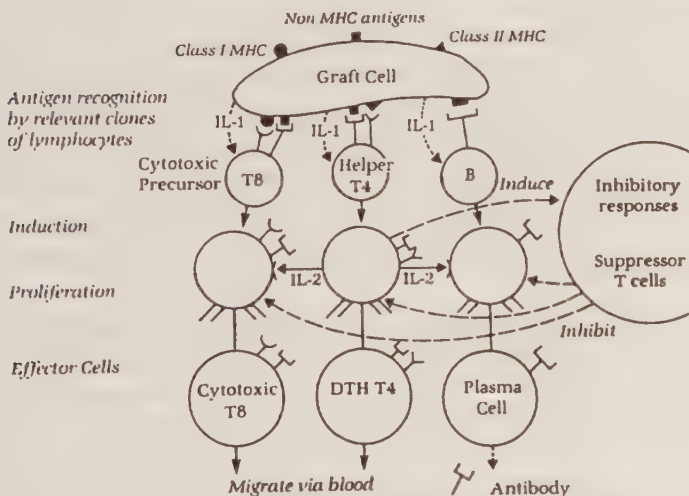


Abb. 15: nach SIMMONS (1985), Entwicklung der zellulären und humoralen Abstoßung

Kontrollgruppe

Die Überlebenszeit nach allogener Nierentransplantation, bei histoinkompatiblen Hunden beträgt ohne immunsuppressive Therapie 5-12 Tage (CHAUSSY et al.; 1975).

Nierentransplantationen im xenogenen System Fuchs-Hund weisen ohne Therapie eine mittlere Überlebenszeit von $6,5 \pm 0,4$ Tagen auf, was etwa im Bereich der Überlebenszeiten allogener Hundenierentransplantationen liegt.

In der Tabelle 4 sind übersichtartig alle bisher erreichten Überlebenszeiten und die dabei verwendete Therapie aufgelistet.

Corticosteroide

Von den zahlreichen synthetischen Corticosteroiden mit antiinflammatorischer Wirkung besitzen nur wenige auch einen immunsuppressiven Effekt.

Gemeinsame Strukturmerkmale dieser Gruppe von Steroiden sind ein ungesättigter A-Ring, eine Keto- oder Alkoholgruppe Position 11, eine Ketogruppe in 20 und eine Alkoholgruppe in 21 (ALEXANDRE et al., 1981).

Das Verhältnis von antiinflammatorischer Wirkung, immunsuppressivem Effekt und Natrium-retinierender Wirkung bei den verschiedenen Substanzen ist durchaus unterschiedlich. Diese Cortisolderivate haben vielfältige Wirkungen auf das Immunsystem indem sie sich an einem spezifischen zytoplasmatischen Rezeptor binden.

Dieser aktive Komplex verhindert die Transkription

von DNA zu m-RNA (SIMMONS, 1985).

Weiterhin wird die Anzahl der antigenpräsentierenden Zellen verringert, die Class II-Antigene exprimieren können und Interleukin 1 freisetzen. Sie verringern auch die T-Zellaktivierung und als Konsequenz daraus die Freisetzung von Interleukin 2. Die vielfältigen systemischen Wirkungen und die Verminderung der Resistenz gegenüber allen Arten von Infektionen schränken Ihren klinischen Einsatz stark ein (NORTH, 1971).

Methylprednisolon wurde in diesem Model nur mit Cyclosporin A, als Kombinationstherapie getestet. Dabei wurde eine Überlebenszeit von $10,9 \pm 3,0$ Tagen erreicht (BÖHM et al.; 1986).

Antimakrophagenserum (AMS)

Hierbei handelt es sich um einen weitgehend unspezifisch wirkenden Antikörper, der gegen Makrophagen gerichtet ist. In den letzten Jahren wurden verschiedentlich heterologe Antimakrophagenseren (AMS) hergestellt, die überwiegend auf Makrophagen und weniger oder überhaupt nicht auf Lymphozyten wirken.

Folgende Eigenschaften von AMS wurden beschrieben:

- Agglutination von Makrophagen (KÖNIG et al., 1973)
- Unterdrückung der Phagocytose in vitro und in vivo (HIRSCH et al., 1966)
- Behinderung der Antikörperproduktion (LAND et al. 1967)

Unter der Therapie von AMS wurden in diesem Modell Überlebenszeiten von $15,8 \pm 0,7$ Tage erreicht (SCHEEL, 1975)

Antilymphozytenserum (ALS)

Antilymphozytenserum sind xenogene Immunsere, die durch die Immunisierung verschiedener Tierarten mit Lymphozyten einer anderen Spezies hergestellt werden.

Das wesentliche dieser Seren ist, daß sie Antikörper enthalten (vgl. mit AMS), die spezifisch mit den Lymphozyten derjenigen Spezies reagieren von der das Immunisierungsmaterial stammte. Voraussetzung für die Bildung solcher Antikörper ist die Existenz von Antigenen, die präferenziell oder ausschließlich auf Lymphozyten exprimiert sind.

Die für immunsuppressive Wirkung relevanten Antikörper in Antilymphozytenserum sind gegen Zellmembranantigene von Lymphozyten gerichtet.

Der wichtigste in vivo-Effekt der Behandlung besteht in einer ausgeprägten Verminderung lymphatischer Zellen sowohl in der Zirkulation wie auch in den lymphatischen Geweben (TAYLOR, 1971).

Als Nebenwirkung können sich bei ALS und AMS eine Sensibilisierung der behandelten Patienten gegen das injizierte Fremdeiweiß ergeben.

Mit einer ALS-Therapie konnte eine Überlebenszeit von $13,2 \pm 1,0$ Tagen erreicht werden (SCHEEL, 1975), mit einer Kombinationstherapie von AMS und ALG $17,7 \pm 0,9$ Tage (PONGRATZ, 1975).

Cyclosporin A

Cyclosporin A ist ein cyclisches Polypeptid, das aus zwei Pilzspecies (*Cylindrocarpum lucidum* und *Trichoderma polysporum*) gewonnen wird.

Es besteht aus 11 Aminosäuren und hat ein Molekulargewicht von etwa 1200 (PETCHER et al. 1976).

Die immunsuppressive Wirkung von Cyclosporin A wurde erst vor wenigen Jahren entdeckt (RUEGER et al., 1976).

Es wirkt in allen bisher getesteten Spezies immunsuppressiv auf T-Zellen, bei geringer Wirksamkeit auf B-Zellen. Cyclosporin A blockiert das Interleukin-2 (IL-2) abhängige T-Zellwachstum durch Inhibition der Transkription der für den T-Zellwachstumsfaktor IL-2 kodierenden messenger RNA (BRITTON et al., 1982; WHITE, 1982). Eine weitere wichtige Wirkung ist eine reduzierte Freisetzung von Lymphokinen, besonders dem Gamma-Interferon von aktivierten T-Zellen.

Dieser großen immunsuppressiver Potenz steht eine Reihe von Nebenwirkungen gegenüber.

Besonders große Bedeutung hat dabei die nephrotoxische Wirkung (JARCK et al., 1983).

Mit einer Cyclosporin A-Therapie konnte eine Überlebenszeit von $10,9 \pm 3,0$ Tagen erreicht werden (BÖHM, 1986).

15-Deoxyspergualin

Betrachtet man die verschiedenen vorgestellten immunsuppressiven Substanzen, dann erscheint keines von ihnen, aus den verschiedensten Gründen, als

ideal.

Ihr größter gemeinsamer Nachteil ist die geringe immunologische Spezifität und ihre begrenzte Wirkung auf die Abstoßungsmechanismen.

Weiterhin besitzen alle genannten Substanzen erhebliche Nebenwirkungen und eine zum Teil beachtliche Toxizität. Alle erhöhen das Infektionsrisiko und eine mögliche cancerogene Wirkung wird diskutiert (SIMMONS, 1985).

Die unter der Therapie von 15-DS erreichte Überlebenszeit von $13,0 \pm 3,0$ Tagen wurde nur von mit AMS und ALG therapierten Tieren überboten.

Diese relativ langen Überlebenszeiten dürfen aber nicht darüber hinwegtäuschen, daß diese beiden Antikörper zu einem vollständigen Ausfall von wichtigen funktionellen Teilen des Immunsystems führen.

Sie bringen den Patienten letztlich in eine Immuninkompetenz.

Die parenterale Applikation und die sehr großen Nebenwirkungen schränken die Indikation weiter ein. Aus der Sicht heutiger Erkenntnisse und der Forderung nach einer restitutio ad integrum hat diese Gruppe nur noch geschichtliche Bedeutung. Es soll aber nicht unerwähnt bleiben, daß diese Substanzen mit dem entscheidenden Durchbruch bei der Transplantations-Therapie brachten.

Bedeutender ist aber der Vergleich mit der Überlebenszeit, die bei den Cyclosporin A therapierten Tieren erreicht wurde. Hier brachte die 15-DS-Therapie eine Verlängerung um 19,3 %.

Dies ist auch die längste Überlebenszeit, die mit einem Immunmodulator in diesem Transplantationssystem erreicht wurde.

4.4. Serumanalysen nach 15 Deoxyspergualin-Therapie

Der Verlauf der durchschnittlichen Kreatinin- und Harnstoffspiegel ist auch hier durch eine typische dreiphasige Kurve gekennzeichnet.

Auf einen sprunghaften postoperativen Anstieg folgt ein langes Plateau dem sich ein progressives präfinales Anwachsen anschließt.

Der Dynamik dieser Kurve liegen wahrscheinlich verschiedene pathophysiologische Abläufe zugrunde.

Bei allen Transplantatempfängern konnte ein sprunghaftes Ansteigen der harnpflichtigen Substanzen im Serum beobachtet werden.

Hierfür sind viele Gründe verantwortlich.

Am bedeutendsten dürfte eine ischämische Transplantatschädigung, im Sinne einer akuten Tubulusnekrose sein. Der Funktionsverlust der Nieren ist in den ersten Stunden der hypothermen Lagerung am größten (GUNDMANN et al. 1978). Weiterhin muß man von einer Schädigung der Transplantate durch die en bloc Präparation, im Sinne einer Operationstraumatisierung ausgehen (DOUGHERTY, et al., 1969).

Diskutiert werden muß auch eine immunologische Schädigung des Transplantates durch natürliche präformierte Antikörper, die in vitro mit den angewandten Methoden nicht erfaßt wurden. Diese könnten durch eine Antigen-Antikörper-Reaktion mit Fuchs-Antigen einen lokalen vasoaktiven Mechanismus in Gang setzen, der zu einer initialen Minderdurchblutung der Nierenrinde und damit zu einer Funktionseinschränkung des Transplantates führt.

Weitere Gründe für eine Verminderung der Nierenfunktion sind die Narkosemittel. Bei der Anwendung

von Halothan und Combelen kommt es zur Hypotonie und dadurch zu einer geringeren Nierendurchblutung (RAVENTUS, 1956; SHORT et al., 1969; NEUMANN et al., 1975). Dabei kann es bei systolischen Drücken von 60-80 mm Hg zu einer Verminderung der Nierenfunktion von um 12 % bis 68 % kommen.

Diese Vorgänge sind aber in der Regel reversibel, so daß es nach einigen Tagen wieder zur Normalisierung der Nierenfunktion kommt.

Die Traumatisierung von Gewebe bei der Transplantation ist auch für den postoperativen Anstieg von stickstoffhaltigen Verbindungen im Serum verantwortlich. Da es bei der Durchtrennung der Bauchmuskulatur zur Zerstörung des Sarkolemmes kommt, wird Kreatinin, ein Produkt des endogenen Muskelstoffwechsels vermehrt im Blut anzutreffen sein. DIETEL (1931) beobachtete häufig eine Erhöhung der Harnstoff- und Kreatininkonzentrationen bis zum 3. postoperativen Tag. Er machte dafür den Zerfall nekrotisch werdender Gewebeteile verantwortlich.

HEBERER et al. (1976) sieht einen Grund in der vermehrten postoperativen Harnstoffbildung und der negativen Stickstoffbilanz als Folge der Katabolie.

Der schnelle präfinale Anstieg ist wenig aussagekräftig, die Tiere befinden sich dann schon im Zustand einer vollkommenen Niereninsuffizienz. Es handelt sich dabei um einen irreversiblen Zustand. Mit Eintritt in dieses Stadium wurden die Tiere euthanasiert.

Vergleicht man die Werte, die bei der Therapie mit 15-DS gewonnen wurden, mit solchen Cyclosporin A therapiert Tiere, so ist kaum ein Unterschied sichtbar. (Tabelle 6)

Tab. 6: Vergleich von Serum-Kreatinin-Spiegel und Schweregrad der Inflammation bei unterschiedlicher Immunsuppression

-Therapie Tag:	Kreatinin				FNAC/CI	
	3	7	13	3	7	13
Kontrolle	8,3	9,0	ND	ND	ND	ND
CSA	3,9	4,0	10,0	1,0	2,0	ND
CSA + MP	5,0	7,0	ND	1,0	2,0	ND
15-DS	4,0	6,5	8,0	2,8	3,0	5,0

Unter der Therapie von 15-DS ist lediglich, korrespondierend zur längeren Überlebenszeit, das Plateau um 1-2 Tage länger. Das Eliminationsvermögen der Nieren bezüglich stickstoffhaltiger Substanzen verhielt sich unter der Therapie mit 15-DS ähnlich dem unter Cyclosporin A Therapie.

4.5. Hämatologische Befunde

Bei allen Versuchstieren entwickelte sich gleichsinnig eine normochrome und normozytäre Anämie. Dieser Befund ist mit hoher Wahrscheinlichkeit auf den unvermeidbaren Blutverlust bei der Transplantation, die täglichen Blutentnahmen zur Routinediagnostik und vielleicht auch einem Erythropoetinmangel zurückzuführen.

15-DS scheint keinen Einfluß auf das rote Blutbild zu nehmen.

Ähnliche Beobachtungen wurden schon bei anderen Untersuchungen gemacht (GREVEMAYER, 1986; BÖHM, 1986).

Die ausgeprägte Leukozytose an den ersten postoperativen Tagen kann einerseits als erste antigene Stimulierung und zum anderen als ein posttraumatischer Operationseffekt gedeutet werden.

Besonders der hohe Anteil von polymorphkernigen und neutrophilen Granulozyten deutet auf eine hohe Phagocytoseaktivität hin.

Die starke Zunahme der Lymphozyten am 7./8. Tag kennzeichnet die erste von Lymphozyten getragene Abstoßungsreaktion.

Der sprunghafte Anstieg der Lymphozytenzahlen am 13./14. Tag kann als weitere Abstoßungsreaktion interpretiert werden.

Im Unterschied zur ersten zeigte sich diese Lymphozytenzunahme als nicht mehr reversibel und stieg bis zum Tod der Tiere an.

Die leichte Erhöhung der absoluten Anzahl von Monozyten in den ersten Tagen nach der Transplantation ist auf ihre Beteiligung an der Phagocytose

und der Antigenpräsentation zurückzuführen (CALNE, 1984; STORM, et al., 1985).

Bei allen Tieren war das irreversible Nierenversagen durch einen sprunghaften Anstieg der Monozyten gekennzeichnet.

Die bei der Auswertung der aktivierten Zellformen des mononukleären Konzentrates gefundenen Erhöhungen am 2./3. Tag und 8./9. Tag können auch als zwei Abstoßungswellen interpretiert werden.

Ihr schnelleres Auftreten als das der Lymphozyten weist auf ihre frühe Beteiligung an der Abstoßungsreaktion hin.

Es wird vermutet, daß ein Großteil der aktivierten Zellen des mononukleären Konzentrates bei der Nierentransplantation mit dem Harn ausgeschieden wird (HAMMER, 1987).

Damit sind sie zumindest beim Versuchstier Hund verloren. Beim Menschen bietet sich die Möglichkeit, Abstoßungsreaktionen durch die im Harnsediment enthaltenen Zellen zu diagnostizieren.

4.6. Zellinfiltrationen im Transplantat

Die Transplantate wiesen überwiegend eine Infiltration mit Lymphozyten und Makrophagen auf.

Aktivierte Zellen und Blasten waren dagegen selten zu finden. Betrachtet man die Anzahl der Lymphozyten im Transplantat, so fällt auf, daß sie sehr großen Schwankungen unterworfen war. Dies ist auch ein Hinweis auf ihre hohe Mobilität.

Die höchsten Werte, die am 3. und 8. Tag gemessen wurden, kann man als Abstoßungsreaktionen interpretieren.

Die Monozytenkonzentration ist insgesamt sehr gering und steigt fast linear und sehr langsam an. Dies läßt den Schluß zu, daß die Einwanderung von Monozyten stärker gehemmt wird, als die der Lymphozyten.

Betrachtet man dazu die C.I. Werte die relativ spät erst ab Tag 12 über 5 liegen, so zeigt sich eine wirksame Hemmung der Monozyten/Makrophagen Migration.

Vergleicht man die Lymphozytenkonzentrationen im Transplantat von 15-DS therapierten Tieren mit jenen unbehandelter Kontrolltiere (SCHEEL, 1975), zeigen sich geringere Unterschiede als dies bei den Monozytenkonzentrationen der Fall ist.

4.7. Der Einfluß von 15-Deoxyspergualin auf die Abstoßung

15 DS ist im Stande, wirksam die Abstoßungsreaktion zu vermindern.

Schon sehr früh wurde eine primäre Wirkungsweise auf das Makrophagen/Monozytensystem diskutiert (DICKNEITE, et al., 1986).

Dies war auch schon bei der Betrachtung der Zellfluktuationen im Transplantat deutlich.

Daraus läßt sich schließen, daß der zelluläre Effektorarm bei der Abstoßung stark und früh unterdrückt wurde.

Das elektive Eingreifen bei der Antigenerkennung und Verarbeitung ist ein Novum in der Geschichte der Immunsuppressiva.

Die gefundenen Ergebnisse kann man auch gut in Verbindung mit den in vitro gemachten Untersuchungen bringen.

Dort wurde festgestellt, daß 15-DS die Interleukin 1 Sekretion und die Antigenerkennung unterdrückt (DICKNEITE et al., 1987d).

Auch die in vitro gefundene geringe Beeinflussung der Lymphozytenfunktionen konnte im Modell bewiesen werden (NEMOTO et al., 1987e).

Weiterhin wurden in Monozyten die Bildung von Sauerstoffradikalen, die Sekretion hydrolytischer Enzyme und Expression von Class II-Antigenen auf der Oberfläche gehemmt (DICKNEITE et al., 1986; 1987).

Da die zellulären Mechanismen durch 15 -DS wirksam unterdrückt wurden, muß der Träger der Abstoßungsreaktion humoraler Art gewesen sein.

Dafür kann man im konkordant xenogenen Modell

präformierte natürliche Antikörper (PNAK) ausschließen. In diesem Fall kommen komplementabhängige zytotoxische Antikörper in Frage, die erst nach Antigenkontakt gebildet werden.

Die bei der pathohistologischen Untersuchung der Transplantate festgestellten Veränderungen können in diesem Sinn interpretiert werden.

Diese toxischen Schädigungen der Tubulusepithelien treten im verstärkten Maße erst ab dem 11./12. Tag auf, also nach einer Zeit, in der die Produktion dieser Antikörper genügend hoch sein kann.

Würden diese toxischen Schädigungen von 15-DS verursacht, müßten sie schon vorher - wenn auch in diskreterer Form sichtbar sein - da die Nieren ständig mit der Substanz belastet waren.

Auch die frühe Aktivierung des mononukleären Konzentrates am 3. Tag und die durchschnittliche Überlebenszeit von 13 Tagen sprechen für diese Art der humoralen Abstoßung.

Bei der humoralen Transplantatzerstörung binden sich zytotoxische Antikörper an die HLA bzw. DLA-Antigene und zerstören unter Komplementwirkung die Membranen der Endothelzellen (ROSENBERG et al., 1971). Die so eingeleitete pathophysiologische Kaskade führt zur Verlangsamung der Strömung und zur Aggregation von polymorphkernigen Leukozyten und Thrombozyten.

Dabei und möglicherweise auch bei der Antigen-Antikörperreaktion werden vasoaktive Substanzen frei, die zu einem weiteren Anstieg des Strömungswiderstandes und zu einer Verminderung des venösen Rückflusses führen (MESSMER et al., 1971).

Durch Freiwerden weiterer Mediatoren und vasoaktiver Stoffe kommt es zu einer lokalen - später

generellen - Aktivierung des Gerinnungssystems (MOBERG et al., 1971). Die Folge davon sind multiple Thromben in der Strombahn, besonders in der funktionellen Endstrombahn.

Später, nach Erschöpfung des Gerinnungssystems treten disseminierte unstillbare Blutungen auf.

Beides konnte, in dieser chronologischen Reihenfolge, bei den Tieren klinisch wie auch pathologisch beobachtet werden.

Dieser humorale Abstoßungsmechanismus erklärt auch die relativ geringen Incrementwerte, also die geringe Anzahl der inflammatorischen Zellen in der Niere.

Dadurch wird im späteren Stadium in diesem Modell die sonst sehr aussagekräftige Feinnadelaspirationszytologie unsicher.

Aus diesen Befunden läßt sich ableiten, daß 15-DS nicht - oder nur in sehr geringem Maß - auf die humorale Zellantwort wirkt.

Diese geringe Wirkung auf den humoralen Schenkel der Immunantwort hat es ebenfalls mit dem Cyclosporin A gemein (BRITTON, et al., 1982).

Die großen Hoffnungen, die auf einen synergistischen Effekt der beiden Substanzen bauten, konnten leider nicht erfüllt werden (DICKNEITE et al., 1987).

4.8. Toxizität von 15-Deoxyspergualin

Die pathohistologische Untersuchung aller Organsysteme (außer ZNS) sollte klären, ob ein toxischer Effekt, schon bei kurzen Applikationszeiten von 15-DS vorliegt.

Besonders wichtig war die Frage, inwieweit die Substanz nephrotoxisch ist. Diese Nephrotoxizität ist von Cyclosporin bekannt und gilt dort als besonders fatale Nebenwirkung.

Bei der Untersuchung der Transplantatnieren zeigte sich eine Schwellung und Vakuolisierung der Tubuluszellen, die wahrscheinlich auf zytotoxische Antikörper und hypoxische Zustände zurückzuführen sind.

Eine geringgradige nephrotoxische Wirkung von 15-DS kann letztlich nicht ganz ausgeschlossen werden.

Im direkten Vergleich zu den mit Cyclosporin A therapierten Tieren ist die Schädigung sowohl quantitativ wie auch qualitativ deutlich geringer ausgeprägt.

Die pathohistologische Untersuchung aller anderen Organsysteme erbrachte keinen Hinweis auf eine weitere toxische Wirkung.

4.9. Nebenwirkungen bei der 15-DS Therapie

Für das Erbrechen, das bei allen Hunden mehr oder weniger stark auftrat, konnte eindeutig 15-DS als Ursache identifiziert werden.

Die Gaben von zentralen oder peripheren Antiemetika brachten wenig Besserung.

Als wirkungsvolle Maßnahme erwies sich eine langsame Infusionsgeschwindigkeit. In unseren Versuchen bestätigten sich die Ergebnisse von WELTMANN (1986), daß nur der Serumspitzenwert für das Erbrechen verantwortlich ist.

Dieses Erbrechen scheint eine nur bei Caniden vorkommende Reaktion zu sein. Es konnte bisher bei keiner anderen untersuchten Tierart festgestellt werden (PICHELMAYER, 1988).

5. Zusammenfassung

15-Deoxysperugalin (15-DS) ist ein Guanidinderivat und entsteht als Stoffwechselprodukt von *Bacillus laterosporus*.

In ersten allogenen Transplantationsmodellen beim Kleintier wurde eine dosisabhängige immunsuppressive Wirkung gefunden.

Das Ziel der Untersuchungen war es, die Wirkung von 15-DS im konkordant xenogenen Großtiermodell zu untersuchen. Die Nieren von Silberfüchsen (*Vulpes vulpa*), mit einem Körpergewicht von 5-7 kg, wurden "en bloc" mit den Iliacalgefäßen der beidseits nephrektomierten Empfänger anastomosiert.

Die beiden Ureteren wurden getrennt in die Harnblase implantiert. Als Empfänger dienten 11 Mischlingshunde mit einem Körpergewicht von 14-16 kg.

Die Immunsuppression bestand aus 2,5 mg/kg KG 15-DS am Tag 0 als "loading dose" und 1mg/kg KG ab Tag 1 nach Transplantation bis zum Ende des Versuches.

Zur Kontrolle der Abstoßungsreaktion wurde mittels Feinnadelbiopsie aus beiden Nieren, in zweitägigen Intervallen, Zellmaterial aspiriert. Im peripheren Blut wurden die Serum-Kreatinin- und Harnstoffspiegel bestimmt und eine Blutzytologie durchgeführt.

Die mittlere Überlebenszeit der Kontrolltiere ohne Immunsuppression betrug 6.2 ± 1.2 Tage. Durch 15-DS Gabe wurde die Überlebenszeit auf 13.0 ± 3.8 Tage

(100 %) verlängert. Der Unterschied zur historischen Kontrollgruppe ist hochsignifikant ($p < 0.001$, Mann-Whitney-U-Test).

Die im Serum gemessenen Kreatinin- und Harnstoffwerte lagen deutlich unter denen der Kontrolle mit Ausgangswerten um 0.8 mg % bis maximal 11 mg % am Tag 18 an.

Die Feinnadelaspiration (FNAC) wies eine zelluläre Infiltration mit vorherrschend Lymphozyten und Makrophagen auf.

Die pathohistologische Untersuchung zeigt eine Schwellung und Vacuolisierung der Tubuluszellen, die möglicherweise auf einen nephrotoxischen Effekt von 15-DS zurückgeführt werden kann. Im direkten Vergleich zur Cyclosporin A Gruppe ist die Schädigung jedoch sowohl quantitativ wie qualitativ deutlich geringer ausgeprägt.

15-Deoxyspergualin stellt ein immunsuppressives Medikament dar, das in seiner Potenz dem Cyclosporin A sehr nahe kommt. Die längeren Überlebenszeiten bei geringerer Nephrotoxizität machen daher den neuen Wirkstoff interessant.

Summary

Deoxyspergualin, a New Immunosuppressive Regimen in Xenogeneic Organ Transplantation

Several investigators reported that 15-Deoxyspergualin (15-DS), a metabolite of *Bacillus laterosporus*, shows dose dependent immunosuppressive activities in various allogeneic transplantation models. The purpose of the study is to determine the effectiveness of 15-DS and the monitoring of intragraft cellular fluctuations by fine needle aspiration cytology (FNAC) in an animal model using xenogeneic grafts.

Kidneys of European silver foxes (*Vulpes vulva*) were transplanted en bloc into bilaterally nephrectomized mongrel dogs.

Immunosuppression consisted in 2.5 mg/kg KG 15-DS at day 0 and was reduced to 1 mg/kg KG daily beginning at day 1 after transplantation.

FNAC's were performed every 2 days starting on day 1 post operation. In addition peripheral blood was sampled for blood cytology and for determination of serum creatinin and uric levels. Graft survival was compared with a control group of identical xenogeneic transplanted dogs without immunosuppression. Mean survival time in the 15-DS treated transplanted group turned out to be 13.0 ± 4.8 days in contrast to the control group of 6.5 ± 1.2 days.

Monitoring of serum-creatinin and -urea showed clearly lower levels in 15-DS treated animals, with a continuous increase starting from 0,8 mg % on day 0 up to 11 mg % on day 18 post op. serum-creatinin,

in comparison to the controls. Monitoring of the grafts using with FNAC for cellular infiltration, showed mostly lymphocytes and macrophages.

Additionally, in pathohistological findings swellings and vacuolisation of the tubulus cells were detectable as a potential nephrotoxic effect of 15-DS treatment.

G. Literaturnachweis

- ALEXANDRE, G.P.J. (1981)
Immunsuppressive Behandlungsverfahren
In: Pichelmayer R. (Hrsg.)
Transplantationschirurgie Springer Verlag, Berlin-
Heidelberg - New York, pp. 205-254
- BAILEY, L.L., NEHLSEN-CANNARELLA S.L. (1985)
Baboon to human cardiac xenotransplantation in a
neonate.
JAMA, 254, 3321-3324
- BAILEY, L.L., YUUG, J., JOHNSON, W. (1984)
Orthopic cardiac xenograft in the newborn. Presen-
ted at the tenth annual meeting of the Western
Thoracic Surgical Association June 20-23
- BARNARD, C.N., WOLPOWITZ, A., LOSMANN, J.G. (1977)
Heterotopic cardiac transplantation with a xeno-
graft for assistance of the left heart in cardio-
genic shock after cardiopulmonary by pass
South Afr. Med. J. 52, 1035-1041
- BEGEMANN, H., RASTETTER J., (1978)
Atlas der Klinischen Hämatologie. Springer Verlag,
Berlin - Heidelberg -New York, 3. Aufl.
- BERGEON, R.J. und McMANIS, J.S. (1987)
Total synthesis of (+)15 Deoxyspergualin
J. Org. Chem. 52, 1700-1703.
- BRENDEL, W., HAMMER, C., CHAUSSY, CH. (1981)
Grundlagen und Ergebnisse xenogener Organtransplan-
tationen.
In: Pichelmayer, R. (Hrsg.), Transplantations-
chirurgie, Springer Verlag, Berlin - Heidelberg-
New York, pp 329-344
- BRITTON, S. and PALACIOS, R. (1982)
Cyclosporin A - usefulness, risks and mechanisms of
action.
Immun. Rev. 65, 5-22
- CALNE, R.Y. (1970)
Organ transplantation between widely disparate
species
Transpl. Proc. 2, 550-553

- CALNE, R.Y., (1984)
Transplantation immunology, clinical and experimental
Oxford University Press
- CHAUSSY, C., HAMMER, C., EISENBERGER, F., v. SCHEEL, J.,
LAND W., PIELSTRICKER, K. (1972)
Some aspects of the rejection of xenogenic kidney
transplants in different donor recipient combinations.
Res. exp. Med. 159, 266-269
- CHAUSSY, C., HAMMER, C., v. SCHEEL, J., PIELSTICKER, K.,
SOLLIGER, H.W., PFEIFFER K.J. (1975)
Xenogeneic skin and kidney transplants in a closely
related canine system, fox-dog.
Transpl. Proc. 20, 150-154
- COLLIER, D. St. J., CALNE, SIR ROY, THIRU, S., KOHNO, H.
und LEVICKIS, J. (1987)
15-Deoxyspergualin (DSG) in experimental dog renal
allografts.
Behring Inst. Mitt. 82, 231-239
- DICKNEITE, G., WALTER, P., SCHORLEMMER, H.U. und
SEDLACEK, H.H. (1985)
The immunosuppressive properties of 15-Deoxyspergualin and its effects on experimental skin and islet cell transplantation. Recent Advances in Chemotherapy, Anticancer Section, edit. by Joji Ishigami, pp. 949-950, 14th Int. Congress of Chemotherapy, Kyoto
- DICKNEITE, G., SCHORLEMMER, H. U., WALTER, P. und
SEDLACEK, H.H. (1986a)
Graft survival in experimental transplantation could be prolonged by the action of the antitumoral drug 15-Deoxyspergualin.
Transpl. Proc. 18, 1295-1296
- DICKNEITE, G., SCHORLEMMER; H.U., WALTER, P., THIES, J.
und SEDLACEK, H.H. (1986b)
The influence of (+)-15-Deoxyspergualin on experimental transplantation and its immunopharmacological mode of action.
Behring Inst. Mitt. 80, 93-102

- DICKNEITE, G., SCHORLEMMER, H.U., und SEDLACEK, H.H.
(1987a)
Decrease of mononuclear phagocyte cell functions
and prolongation of graft survival in experimental
transplantation by (+)-15-Deoxyspergualin.
Int. J. Immunopharmacol. 9, 559-565
- DICKNEITE, G., SCHORLEMMER, H.U., BARTLETT, R.R. und
SEDLACEK, H.H. (1987b)
Therapy of experimental autoimmune diseases by the
new immunosuppressant 15-Deoxyspergualin (15-DS).
Behring Inst. Mitt. 82, 231-239
- DICKNEITE, G., SCHORLEMMER, H.U., SEDLACEK, H.H., FALK,
W., ULRICH, K. und MÜLLER-RUCHHOLTZ, W. (1987c)
Suppression of macrophage function and prolongation
of graft survival by the new guanidinic-like
structure, 15-Deoxyspergualin.
Transpl. Proc. 19, 1301-1304
- DICKNEITE G., SCHORLEMMER, H.U., WALTER, P., THIES, J.,
SEDLACEK, H. (1968)
The Influence of 15-Deoxyspergualin on Experimental
Transplantation and its Immunopharmacological Mode
of Action
Behring, Inst. Mitt., 80, 93-102
- DICKNEITE, G., SCHORLEMMER, H.U., WEINMANN, E.,
BARTLETT, R.R. und SEDLACEK, H.H. (1987d)
Skin transplantation in rats and monkeys: evalua-
tion of efficient treatment with 15-Deoxyspergua-
lin.
Transpl. Proc. 19, 4244-4247
- DICKNEITE, G., SCHORLEMMER, H.U. und SEDLACEK, H.H.
(1988)
Präklinische Untersuchungen mit 15-Deoxyspergualin
bei experimenteller Graft versus HOST Erkrankung
(GvHD).
Immunität und Infektion (in press)
- DIETEL, F.G. (1931)
Vergleichende Untersuchungen über Beeinflussung des
Blutchemismus (Kreatinin, Harnsäure, Rest-Stick-
stoff und Cholesterin) durch Operation in Narkose
und Lokalanästhesie
Arch.Klin.Chir. 163, 452-487

- DOUGERTY, I.C., HOLLENBERG, M., MIWICK, R., WHITSELL, I.C., VEITH, F.J. (1969)
Intravental distribution of blood flow in dog renal allografts
Ann. Surg. 169, 560-564
- ENGEMANN, R., GASSEL, H.J., LAFRENZ, E., STOFFREGEN, C. und THIEDE, A. (1987)
Transplantation tolerance after shortterm administration of 15-Deoxyspergualin in orthotopic rat liver transplantation.
Transpl. Proc. 19, 4241-4243
- GEBHARD, F., (1985)
Feinnadelbiopsie bei Nierentransplantation,
Diss. München
- GORER, P.A. (1936)
The detection of antigenic differences in mouse erythrocytes by the employment of immune serum
Br.J.Exp. Pathol. 17, 42-50
- GORER, P.A., AMONS, D.B. (1956)
Passive immunity in mice against C₅₇Bl leukemia EL₄ by means of isoimmune serum.
Advance. Cancer Res. 4, 149-153
- GREGOIRE, W. (1957)
L'anastomose ureto-vesicale laterale.
Acta Urol. Belg. 25, 4-10
- GROTH, C.G. (1972)
Landmarks in clinical renal transplantation.
Surg Gynecol Obstet 134, 323-328
- GRUNDMANN, R. (1981)
Organkonservierung
In: Pichelmayer, R. (Hrsg.) Transplantationschirurgie Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, pp 123-159
- HÄYRY, P., v. WILLEBRAND, E., AHONEN, J., LINDSTRÖM, B.L., EKLUND, B. (1980)
Use of fine-needle aspiration cytology of the in situ inflammatory response of kidney allograft rejection and the impact of glucocorticosteroids on the inflammation.
Transpl. Proc. 12, 331-338

- HÄYRY, P., et al. (1981)
Monitoring of organ allograft rejection by trans-
plant aspiration cytology
Annals of Clin. Res. 13, 264-267
- HÄYRY, P., v. WILLEBRAND E. (1981)
Practical guidelines for fine needle aspiration
biopsy of human renal allografts
Annals of Clin. Res. 13, 288-293
- HAHN, H.J., LAUBE, F., LUCKE, S., KLÖTING, I., KOHNERT,
K.D. und WARZOCK; R. (1986)
Toxic effects of cyclosporine on the endocrine
pancreas of Wistar rats.
Transplantation 41, 44-47
- HALL, B.M. und DORSCH, S.E. (1984)
Cells mediating allograft rejection.
Immun. Rev. 77, 31-59
- HAMBURGER, J. (1979)
Clinical transplantation.
Transpl. Proc. 11, 1-3
- HAMMER, C., (1987)
Mündliche Mitteilung
- HAMMER C., CHAUSSY, C., BRENDDEL, W. (1973)
Preformed natural antibodies in animals and man
Europ. Surg. Res. 5, 162-165
- HAMMER, C., CHAUSSY, C., SCHEEL, J.v., PONGRATZ, H.,
ROSCHER, E., BRENDDEL, W. (1975)
Survival times of skin and kidney grafts within
different canine species in relation to their
genetic markers.
Transpl. Proc. 7, 439-442
- HAMMER, C. (1972)
Beeinflussung der hyperakuten xenogenen Abstoßungs-
reaktion ex vivo perfundierter Schweine- und
Schafnieren bei Hunden durch aktiv und passiv
erzeugtes Enhancement.
Inaugural Diss. München
- HAMMER, C. (1974)
Habilitation, München

- HAMMER C., LAND, W., HILLEBRAND, G., RÖSSLER E., (1982)
Überwachung von Nierenabstoßungsreaktionen durch
Feinnadelaspirationszytologie
Chir. Forum 1982, Langenbecks Archiv Springer
Verlag, Chir. Suppl. 17
- HARDY, J.D., CHAUZEZ, C.M., KURRUS F.D., NEELY, W.A.,
ERASLAN S., TURNER M.D. (1964)
Heart transplantation in man: developmental
studies and report of a case
JAMA 188, 114-118
- HARDY, M.A., TODD, G., REEMTSMA, K. (1984)
Xeno-transplantation
In: Slavin S. (Ed.), Bone Marrow & Organ Transplan-
tation Elsevier Science Publishers B.U., Amsterdam
- HEBERER, G., KOLE, W. und TSCHERNE, H. (Hrsg.) (1976)
Chirurgie
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, pp
122-122
- HECKNER, F. (1981)
Praktikum der mikroskopischen Hämatologie
Urban und Schwarzenbergverlag
- HEIDENREICH, O., und FÜLLGRAF, G. (1980)
Niere und Elektrolyte,
In: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und
Toxikologie Forth, W. (Hrsg.)
BI Verlag, Mannheim-Wien-Zürich, pp 226-248
- HIRSCH, M.S., GARY, G.W., MURPHY, F.A. (1966) In vitro
and in vivo properties of antimakrophages sera
I. Immunol. 102, 656-661
- HUME, D.M. (1979)
Early experiences in organ homotransplantation in
man and the unexpected sequelae there of.
Am.J.Surg. 137, 152-161
- ISHIGAKI, Y., SATO, T., DONG-LIN, S. und HAYASHI, K.
(1987)
Treatment of experimental allergic myasthenia
gravis with the new immunosuppressant: 15-Deoxy-
spergualin.
J. Neuroimmunol. 16, 80-81

- ITO, J., YAMASHITA, T., TAKAHASHI, K., HHORINISHI, H., NAKAMURA, T., TAKEUCHI, T. und UMEZAWA, H. (1986)
Anti-leukemia activity of 15-Deoxyspergualin against N-butyl-N-nitrosourea-induced autochthonous rat leukemia.
J. Antibiotics 39, 1488-1490
- IWASWA, H., KONDO, S., IKEDA, D., TAKEUCHI, T. und UMEZAWA, H. (1982)
Synthesis of (+)-15-Deoxyspergualin and (+)-Spergualin-15-Phosphate.
J. Antibiot. 35, 1665-1669.
- JABOULAY, M. (1906)
Greffe de reins du caude par soudunes arterielles et reinenses
Bulletin Du Lyon Medical, 107, 575-578
- JARCK, H.U., BLOCK, T., HAMMER, C., BERNHEIM, C. (1983)
Immunsuppression und nephrotoxischer Effekt von Cyclosporin A und ALG bei Nierentransplantationen
Langenbecks Buch für Chirurgie, Suppl. 189
- KING, M.C., WILSON, A.C. (1975)
Evolution at two levels in humans and chimpanzees
Science 188, 107-111
- KIRKMAN, R.L., COLVIN, R.B., FLYE, M.W., WILLIAMS, G.M., SACHS, D.H. (1979)
Transplantation in miniature swine. Evidence for cellular mechanisms in hyperacute rejection of renal allografts
Transplantation 28, 24-30
- KÖNIG, W., BITTER, S., DIETRICH, M., HADDING, U. (1973)
By-pass activation of the complement system, starting with C₃,
Immunochemistry 10, 431-436
- KONDO, S., IWASAWA, H., IKEDA, D., UMEZAWA, Y., IKEDA, Y., INUMA, H. und UMEZAWA, H. (1981)
The total synthesis of spergualin an antitumor antibiotic.
J. Antibiot. 34, 1625-1627

- KOLLER C., HAMMER C., GOKEL, J., LAND, W., HILLEBRAND D., CASTRO L., (1984)
Correlation between core biopsy and aspiration cytology
Transpl. Proc. 16, 1298-1300
- KRAFT, W. und DÜRR, U. (1981)
Kompendium der klinischen Laboratoriumsdiagnostik bei Hund, Katze, Pferd
Verlag M & M. Schaper, Hannover
- KRISTENSEN, T., GRUNNET, N., MADSEN, M., SOLLING, I., FJELDBORG, O., OLSEN, T.S., KISSMEYER-NIELSEN, R. (1976)
Hyperacute rejection of a kidney allograft may be caused by cytotoxic lymphocytes
Acta Pathol. Microbiol Scand 84, 304-312
- LAND, W. (1971)
Möglichkeiten und Grenzen der xenogenen Organtransplantation
Der Chirurg. 42, 172-178
- LAND, W., GRABS, G., BRENDEL, W. (1967)
Immunosuppressive effect of antimakrophage antibodies in rats.
Europ.Surg.Res. 1, 211-214
- LARGIADER, F. (1974)
72 years of organ transplantation. Emerich Ullmann memorial lecture.
Eur. Surg. Res 6, 197-208
- LAUPACIS, A., KEOWN, P.A., ULAN, R.A., McKENZIE, N. und STILLER, C.R. (1982)
Cyclosporin A: a powerful immunosuppressant.
Canad. Med. Ass. J. 126, 1041-1046.
- LILLEHEI, R.C., MANAX, W.G. (1966)
Organ transplantation: A review of past accomplishments.
Present problems and future hopes.
Anesth Analg 45, 707-732
- LONGMIRE, W.P. Jr., SMITH, S.W. (1951)
Homologous transplantation of tissues.
Arch. Surg 62, 443-454

- MATSURA, T., KUMIKATA, S. KANDA, H., AKIYANA, T. und KURITA, T. (1985)
Studies on the mode of action of Cyclosporin A.
Transpl. Proc. 17, 2712-2716
- MERTIN, J. (1982)
Immunosuppressive treatment in demyelinating disease.
Clinics in Immunol. and Allergy 2, 385-403
- MESSMER, K., HAMMER, C., LAND, W., FIEDLER, L., KLÖVEN-KORN, W.P., HOLPER, K. (1971)
Modification of hyperacute xenogeneic kidney rejection
Transpl. Proc. 3, 542-548
- MITCHISON, N.A. (1954)
Passive transfer of transplantation immunity
Proc. R. Soc. [Biol] 42, 72-87
- MOBERG, B.W., SHOWS A.R., GEWURZ, H., MOZES M., NAJARIAN, J.S. (1971)
Prolongation of renal xenografts by the simultaneous sequestration of preformed antibody.
Transpl. Proc., 3, 538-541
- MORRIS, P.J., TING, A., KINCAID, S., SMITH, P. (1979)
Leukocyte antigens in renal transplantation. A clinical and histological evaluation of matching for HL-A in cadaver renal transplantation
In: Terasaki, P.I. (Hsrg) Histocompatibility testing
Munksgaard, Copenhagen, pp 371-380
- NASH, J.R. und BELL, P.R.F. (1979)
Effect of macrophage suppression on the survival of islet allografts.
Transpl. Proc. 11, 986-989
- NASH, J.R. & BELL, P.R.F. (1984)
Islet transplantation - synergism between anti-lymphocyte and antimacrophage agents.
J. Surg. Res. 36, 154-157
- NEMOTO, K., ABE, F., TAKITA, T., NAKAMURA, T., TAKEUCHI T. und UMEZAWA, H. (1987a)
Suppression of experimental allergic encephalomyelitis in guinea pigs by spargualin and 15-deoxyspergualin.
J. Antibiot. 40, 1193-1194

- NEMOTO, J., HAYASHI, M., ABE, F., NAKAMURA, T.,
ISHIZUKA, M. und UMEZAWA, H. (1987b) Immuno-
suppressive activities of 15-Deoxyspergualin in
animals.
J. Antibiot. 40, 561-562
- NEMOTO, K., HAYASHI, M., FUJII, H., (1987c)
Effect of 15-Deoxyspergualin of graft-v-host
disease in mice.
Transpl. Proc. 19, 3985-3986
- NEMOTO, K., ITO, J., ABE, F., NAKAMURA, T., TAKEUCHI, T.
und UMEZAWA, H. (1987d)
Suppression of humoral immunity in dogs by 15-
Deoxyspergualin.
J. Antibiot. 40, 1065-1066
- NEMOTO, K., ABE, F., NAKAMURA, T., ISHIZUKA, M.,
TAKEUCHI, T. und UMEZAWA, H. (1987e)
Blastogenic responses and the release of interleu-
kins 1 and 2 by spleen cells obtained from rat skin
allograft recipients administered with 15-Deoxys-
pergualin.
J. Antibiot. 40, 1062-1064
- NEMOTO, K., ITO, J., HAYASHI, M., ABE, F., OHTAKA, Y.,
NAKAMURA, T., TAKEUCHI, T., und Umezawa, H.
(1987f) Effects of spergualin and 15-Deoxysper-
gualin on the development of graft-versus-host
disease in mice.
Transpl. Proc. 19, 3520-3521
- NISHIKAWA, K., SHIBASAKI, C., TAKAHASHI, K., NAKAMURA,
T., TAKEUCHI, T. und Umezawa, H. (1986)
Antitumor activity of spergualin, a novel antitumor
antibiotic.
J. Antibiot. 39, 1461-1466
- NORTH, R.J.C. (1971)
The action of cortisone acetate on cell-mediated
immunity; suppression of host cell proliferation
and alteration of cellular composition of infective
foci.
J. Exp. Med. 134, 1485-1489
- OCHIAI, T., HORI, S., NAKAJIMA, K., NAGATA, M., ASANO,
T. und ISONO, K. (1987)
Prolongation of rat heart allograft survival by 15-
Deoxyspergualin treatment.
J. Antibiot. 40, 249-250

- PALACIOS, R., (1982)
Concanavalin A triggers T-lymphocytes by direct interacting with their receptors for activation
J. Immun. 128, 337-342
- PATEL, R., TERASAKI, P.T. (1969)
Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation
N. Engl. J. Med. 280, 735-739
- PETCHER, T.J., WEBER, H.P., RUEGGER, A. (1976)
Crystal and molecular structure of an iodo-derivative of the cyclic undecapeptide cyclosporin A
Helv. Chim. Acta 59, 1480-1483
- PICHELMAYER, R. (1988)
Persönliche Mitteilung
- PICHELMAYER, R. (1981)
Transplantationschirurgie
Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York
- PICHELMAYER, R. und TIDOW, G. (1981)
Operationsmethoden und Operationstechnik - Standardverfahren -,
In: Pichelmayer, R. (Hrsg), Transplantationschirurgie, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, pp 529-567
- PLOWMAN, J., HARRISON, S.D., Jr., TRADER, M.W., GRISWOLD, D.P., Jr. CHADWICK, M., McCOMISH, M., M.F. SILVEIRA, D.M. und ZAHARKO, D. (1987)
Preclinical antitumor substance Deoxyspergualin.
Cancer Res. 47, 685-689
- PONGRATZ, H., (1975)
Haut und Nierentransplantationen in den Speziessystemen Fuchs-Hund, Dingo-Hund und Wolf-Hund.
Dissertation München
- PRANGE, C.H., KLIEMS, G. (1976)
Bisherige Erfahrung xenogener Nierentransplantationen
Med. Welt, Bd. 27, Heft 42, 2003-2007
- PRINCETEAU, M. (1905)
Greffes renale
J. Med. Bordeaux 26, 549-551

- REEMTSMA K., KRACKEN B.H., SCHLEGEL, J.V., PEARL, M.A.,
DEWITT C.W., CREECH, O. (1964)
Reversal of early graft rejection after renal
heterotransplantation in man
JAMA, 187, 691-694
- ROSCHER, E., (1978)
Xenogene Nierentransplantation im Nahver-
wandten Speziessystem Fuchs-Beagle.
Dissertation München
- ROSENBERG, J.C., HAWKINS, E., RECTOR, F. (1971)
Mechanisms of immunological injury during
antibody-mediated hyperacute rejection of renal
heterografts
Transpl. Proc. 11, 151-154
- RÜGGER, A., KUHN, M., LICHT, H., LOOSLI, H.R., HUGUENIN,
R., QUIQUEREZ, WARTBURG, A. von (1976)
Cyclosporin A. Ein immunsuppressiv wirksamer
Peptidmetabolit aus Trichoderma polysporum
(Link. ex. Pers.) Rifai.Helv.Chim.Acta 59, 1075-
1078
- SACHS, L., (1984)
Angewandte Statistik
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York
- SCHEEL, J.V., (1975)
Nierentransplantation im nahverwandten
xenogenen Speziessystem Fuchs-Hund.
Dissertation München
- SCHORLEMMER, H.U., BOSSLET, K., DICKNEITE, G., LÜBEN, G.
und SEDLACEK, H.H., (1984)
Studies on the mechanisms of action of the immuno-
modulator bestatin in various screening test
systems.
Behring Inst. Mitt. 74, 157-173
- SCHUBERT, G., STOFFREGEN, C., TIMMERMANN, W., SCHANG, T.
und THIEDE, A., (1987)
Comparison of the new immunosuppressive agent 15-
Deoxyspergualin and Cyclosporine A after highly
allogeneic pancreas transplantation.
Transpl. Proc. 19, 3978-3979
- SIMMONS, R. (1985)
Immunotherapy and Renal Transplantation
Monography of the der University of Minnesota

- STARZL T.E., MARCHIORO T.L. PETERS G.N., KIRKPATRICK, C.H., WILSON et al., (1964)
Renal heterotransplantation from baboon to man: Experience with 6 cases.
Transpl. Proc. 2, 752-755
- STROM T.B., KUPIEC-WEGLINSKI, J.W. HEIDECHE C.D., TILNEY N.L. (1985)
The cellular and molecular basis of allograft rejection: fact and fancy
Transpl. Proc. 17, 801-803
- SUZUKI, S. KANASHIRO, M. und AMEMIYA, H., (1987)
Immunosuppressive effect of a new drug, 15-Deoxyspergualin, in heterotopic rat heart transplantation: in vivo energy metabolic studies by ^{31}P -NMR Spectroscopy.
Transpl. Proc. 19, 3982-3984
- TAKEUCHI, T., IINUMA, H., KUNIMOTO, S., MASUDA, T., ISHIZUKA, M., TAKEUCHI, M., HAMADA, M., NAGANAWA, H., KONDO, S. und UMEZAWA, H., (1981)
A new antitumor antibiotic spargualin: isolation and antitumor activity.
J. Antibiot. 34, 1619-1621
- TAYLOR, R.B., DUFFUS, W.P.H., RAFF, M.C., De PETRIS, S. (1971)
Redistribution and pinocytosis of lymphocyte surface immunoglobulin molecules induced by anti-immunoglobulin antibody.
Nature 233, 225-227
- THIES, J.C., WALTER, P.K., ZIMMERMANN, F.A., DICKNEITE, G., SEDLACEK, H.H., KELLER, H.E. und FEIFEL, G. (1987)
Prolongation of graft survival in allogenic pancreas and liver transplantation by ($\pm$) 15-Deoxyspergualin.
Eur. Surg. Res. 19, 129-134
- ULLMANN, E. (1902)
Experimentelle Nierentransplantation
Wiener Klin. Wochenschrift, 15, 281-283

- UMEDA, Y., MORIGUCHI, M., KURODA, H., NAKAMURA, T., IINUMA, H., TAKEUCHI, T. und UMEZAWA, H. (1985) Synthesis and antitumor activity of spergualin analogues. I. Chemical modification of 7-guanidino-3-hydroxyacyl moiety. J. Antibiot. 38, 886-898
- UMEDA, Y., MORIGUCHI, M., IKAI, K., KURODA, H., NAKAMURA, T., FUJI, A., TAKEUCHI, T. und UMEZAWA, H. (1987) Synthesis and antitumor activity of spergualin analogues. III. Novel method for synthesis of optically active 15-deoxy-11-O-methylspergualin. J. Antibiot. 40, 1316-1324
- UMEZAWA, H., KONDO, S., IINUMA, H., KUNIMOTO, S., IKEDA, Y., IWASAWA, H., IKEDA, D. und TAKEUCHI, T. (1981) Structure of an antitumor antibiotic spergualin. J. Antibiot. 4, 1622-1624
- UMEZAWA, H., ISHIZUKA, M., TAKEUCHI, T. und NAJAMURA, T. (1985) Suppression of tissue graft rejection by spergualin. J. Antibiotics 8, 283-284
- UNGER, E. (1910) Nierentransplantation (II. Mitteilung) Berliner Klinische Wochenschrift 537
- WAGNER, E. (1981) Geschichtlicher Abriß der Organtransplantation, In: Pichelmayer R. (Hrsg.) Transplantationschirurgie, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, pp 11-15
- WALTER, P., FEIFEL, G., SCHORLEMMER, H.U., DICKNEITE, G., SEITZ, G.; GROSS J. und SCHMIDT, U. (1986a) A new immunosuppressive active antitumoral drug, 15-Deoxyspergualin, prevents rejection of allogeneic transplanted islets Transpl. Proc. 18, 1860-1861
- WALTER, P., THIES, J., HARBAUER, G., DICKNEITE, G., SEDLACEK, H.h. & VONNAHME, F. (1986b) Allogeneic heart transplantation in the rat with a new antitumoral drug - 15-Deoxyspergualin. Transpl. Proc. 18, 1293-1294

- WALTER, P., THIES, J., HARBAUER, G., DICKNEITE, G.,
VONNAHME, F. & Feifel, G. (1986c)
Allogeneic heart and kidney transplantation in a
strong rejection model with a new immunosup-
pressive drug, 15-Deoxyspergualin.
Langenbecks Arch. Chir. Suppl., Chirurgisches
Forum '86 f. exp. u. klinische Forschung, Hrsg. H.-
J. Streicher, Berlin pp. 155-159.
- WALTER, P., BERNHARD, U., SEITZ, G. DICKNEITE, G. und
SEDLACEK, H.H. (1987a)
Xenogeneic heart transplantation with 15-Deoxysper-
gualin. Prolongation of graft survival
Transpl. Proc. 19, 3992-3994
- WALTER, P., DICKNEITE, G., FEIFEL, G. & THIES, J.
(1987b)
Deoxyspergualin induces tolerance in allogeneic
kidney transplantation.
Transpl. Proc. 19, 3980-3981
- WALTER, P.K., DICKNEITE, G., SCHORLEMMER, H.U. SEDLACEK,
H.H. JÄGER, S., FEIFEL, G., und SEITS, G. (1987c)
Prolongation of graft survival in allogeneic islet
transplantation by (-)15-Deoxyspergualin in the
rat.
Diabetologia 30, 38-40
- WALTER, P., THIES, J., DICKNEITE, G., SCHORLEMMER;
H.U., SEITZ, G. und Zimmermann, F. (1987d)
Allogene Pankreas- und Inselzelltransplantation mit
Deoxyspergualin.
Chir. Forum, in press.
- WELTMANN, R.H. BOYSEN, B.G., BASEL, D.L., GLAZA, S.M.
und DICKIE, B.C. (1986)
The toxicologic evaluation of 15-Deoxyspergualin
HCI in CD2F₁ mice, Fischer 344 rats, and beagle
dogs.
Proc. of AACR 27, 418-421
- WHITE, D.J.G. (1982)
Cyclosporin A
Elsevier Biomedical Press, Amsterdam-New York-
Oxford

- WIEDERMANN, G., STERNBERGER, H., AMBROSCH, F.,
TAPPEINER, G., SCHADLBAUER, B., KUX, M. (1977)
Hyperakute Abstoßung eines humanen HL-A identischen
Nierenallotransplantates.
Wien. Klin. Wochenschr. 89, 11-13
- WIENER, A.S., MOOR-JANKOWSKI, J. (1963)
Blood groups in anthropoid apes and baboons
Science, 142, 67-69
- WONIGEIT, K., (1981)
Transplantationsimmunologie,
In: Pichelmayer, R. (Hrsg.) Transplan-
tationschirurgie, Springer-Verlag, Berlin-Heidel-
berg-New York, pp 29-108

Worte des Dankes

Ich danke Herrn Prof.Dr.med.Dr.h.c. W. Brendel für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes am Institut für Chirurgische Forschung und für seine Anregungen und Ratschläge im Verlauf der ganzen Arbeit.

Ganz besonders danke ich Herrn Prof.Dr.med.vet., Dr.med. C. Hammer für die zahlreichen Anregungen. Seine Unterstützung und sein Ansporn haben die Arbeit entscheidend geprägt.

Herrn Prof.Dr.med.vet. M. Merkschlager gilt mein Dank für seine ständige Hilfsbereitschaft und für die spezielle Betreuung in tiermedizinischer Hinsicht.

Herrn Prof.Dr. J. Gokel danke ich für die Untersuchung und Beurteilung der histologischen Präparate.

Bei Herrn Dr. David Saumweber bedanke ich mich dafür, daß er mich in das experimentelle Arbeiten einführte und bei Fragen und Problemen jederzeit beriet.

Für die technische Unterstützung im OP und im Labor danke ich Frl. G. Höbel, Frl. A. Almeling und Frl. S. Münzing sowie Herr O. Frisch stellvertretend für das Personal des Tierlabors.

Lebenslauf

04.04.1960	geboren in Schwandorf, als Sohn des Arztes und Chemikers Dr.med. Anton Singer und seiner Frau Hildegart, geb. Derbsch
1966 - 1970	Volksschule in Fronberg
1978	Fachabitur in Schwandorf
1978	Studium der Agrarwissenschaften und Lebensmitteltechnologie an der Universität München, Weihenstephan
1980	Wechsel an die Gesamthochschule Kassel, Fachbereich Landwirtschaft und Internationale Landwirtschaft.
14.12.1982	Beendigung des Studiums mit Schwerpunkt Tierphysiologie und Tierproduktion
1983	Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians Universität München
01.01.1987	Beginn der Dissertation am Institut für Chirurgische Forschung am Klinikum Großhadern.
08.11.1988	Abschluß der tierärztlichen Prüfung
02.1.1989	Approbation

